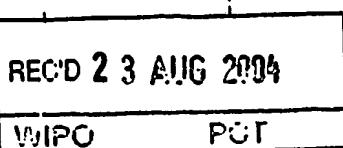


PCT/KR 2004/001982
RO/KR 06.08.2004



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

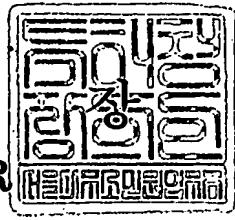
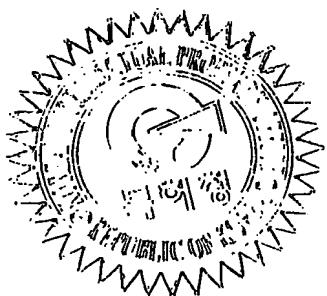
This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office.

출원번호 : 10-2004-0014833
Application Number

출원년월일 : 2004년 03월 05일
Date of Application MAR 05, 2004

출원인 : 학교법인 포항공과대학교
Applicant(s) POSTECH FOUNDATION

2004년 03월 19일



특허청

COMMISSIONER

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2004.08.06. 001982

【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2004.03.05
【발명의 명칭】	분자 수송체로서의 이노시톨 유도체 및 이의 제조방법
【발명의 영문명칭】	INOSITOL-BASED MOLECULAR TRANSPORTERS AND PROCESSES FOR THE PREPARATION THEREOF
【출원인】	
【명칭】	학교법인 포항공과대학교
【출원인코드】	2-1999-900096-8
【대리인】	
【성명】	오규환
【대리인코드】	9-1998-000435-1
【포괄위임등록번호】	2000-016245-0
【대리인】	
【성명】	장성구
【대리인코드】	9-1998-000514-8
【포괄위임등록번호】	2000-016240-3
【발명자】	
【성명의 국문표기】	정성기
【성명의 영문표기】	CHUNG, Sung-Kee
【주소】	경상북도 포항시 남구 지곡동 756 교수아파트 9동 201호
【국적】	US
【발명자】	
【성명의 국문표기】	전옥영
【성명의 영문표기】	JEON, Ock-Young
【주민등록번호】	791201-2047617
【우편번호】	463-907
【주소】	경기도 성남시 분당구 분당동 장안타운 121동 1502호
【국적】	KR



출력 일자: 2004/3/22

【발명자】

【성명의 국문표기】

카우스타브 쿠마르 마이티

【성명의 영문표기】

MAITI,Kaustabh Kumar

【주소】

경상북도 포항시 남구 효자동 낙원아파트 4동 506호

【국적】

IN

【발명자】

【성명의 국문표기】

유석호

【성명의 영문표기】

YU,Seok-Ho

【주민등록번호】

700112-1000911

【우편번호】

790-752

【주소】

경상북도 포항시 남구 지곡동 그린2차아파트 215동 1303호

【국적】

KR

【심사청구】

청구

【핵산염기 및 아미노산 서열목록】

【서열개수】

8

【서열목록의 전자파일】

첨부

【취지】

특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사 를 청구합니다. 대리인

오규환 (인) 대리인

장성구 (인)

【수수료】

【기본출원료】

73 면 38,000 원

【가산출원료】

0 면 0 원

【우선권주장료】

0 건 0 원

【심사청구료】

13 항 525,000 원

【합계】

563,000 원

【감면사유】

학교

【감면후 수수료】

281,500 원



출력 일자: 2004/3/22

【요약서】

【요약】

본 발명은 생체막 투과성이 뛰어난 분자 수송체 및 그의 제조방법에 관한 것으로, 이노시톨 골격구조에 구아니디늄기를 도입하여 제조된 본 발명에 따른 이노시톨 유도체는 수용성이 고, 세포막 또는 핵막 등과 같은 생체막의 투과성이 높아 다양한 종류의 치료용 또는 진단용 의약품을 세포 내로 수송시키는 데 유리하게 사용될 수 있다.

【대표도】

도 1

【명세서】

【발명의 명칭】

분자 수송체로서의 이노시톨 유도체 및 이의 제조방법{INOSITOL-BASED MOLECULAR TRANSPORTERS AND PROCESSES FOR THE PREPARATION THEREOF}

【도면의 간단한 설명】

도 1은 본 발명에 따른 구아니디늄기가 도입된 이노시톨 유도체(3 내지 5), 구아니디늄기가 미도입된 중간체(2) 및 비교 화합물인 d-Arg₉(1)의 세포막 투과 정도를 비교한 결과이고,

도 2는 본 발명에 따른 이노시톨 유도체와 비교 화합물인 d-Arg₉의 핵막 투과 정도를 비교한 결과이다.

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

- <3> 본 발명은 이노시톨을 이용하여 제조된 분자 수송체 및 그의 제조방법에 관한 것이다.
- <4> 모든 생명체 조직의 기본 구성 단위는 세포이고, 세포는 세포 내의 소기관들이 존재하고 있는 세포질을 보호하는 동시에 외부환경과 경계를 짓는 세포막으로 구성된다. 세포막은 인지질 이중층에 단백질이 유동상태의 모자이크 모양으로 분포하고, 선택적인 물질 투과성을 갖기 때문에 유용한 치료제들이 이러한 세포막을 통과하는 데에는 많은 제한이 있다. 특히, 친수성 분자, 분자량은 낮지만 높게 하전된 분자, 펩티드 및 올리고뉴클레오티드(예: 핵산 및 유

전자) 등과 같은 거대분자 등은 세포막을 통과하기가 어렵기 때문에 이를 분자들을 세포 내로 수송하기 위한 별도의 방법이 개발되어 왔다.

- <5> 다양한 종류의 약물 및 거대분자 등을 세포 내로 수송하기 위한 종래의 방법으로는, 약물을 등을 양이온기를 가진 지질로 구성된 리포좀과 혼합하여 지질로 이루어진 소수성 세포막을 좀더 용이하게 통과할 수 있도록 하는 방법과 양이온기를 가진 지질 대신 양이온 중합체인 폴리리신, 양이온기를 가진 텐드리머 등을 사용하여 수송하는 방법 등을 예로 들 수 있다.
- <6> 그러나, 상기 방법들은 양이온기를 갖는 지질, 중합체, 텐드리머 등이 세포 내로 들어갈 경우 쉽게 생분해되지 않고 물에 잘 녹지 않아 침전을 형성하여 독성을 나타내는 문제점이 있다.
- <7> 1985년 후천성 면역 결핍증의 원인인 HIV 바이러스의 복제과정에 필수적인 전사 활성화 인자(*trans-activator*)로서 86-102개의 아미노산 잔기를 갖는 태트(Transacting transcriptional activator) 단백질이 보고되었는데, 태트를 구성하는 영역 중 태트 염기성 영역 (AA 49-57)에 해당되는 펩타이드가 세포막을 통과하는 결정적인 요소라고 알려져 있다.
- <8> 상기 태트 염기성 영역과 유사한 짧은 펩타이드 조각으로, 막투과 활성도가 있는 단백질 변환 영역(PTD, Protein Transduction Domain)을 갖는 단백질로는, 하기 표 1과 같은 Antp 호메오도메인(*Antennapedia homeodomain*) 단백질, Herpes 바이러스 단백질 VP22, NLS(nuclear localization signal sequence) 등이 있다.
- <9>

【표 1】

PTD 함유 단백질	아미노산 서열	서열번호
HIV-1 태트 (48-60)	GRKKRQRRRPPQC	1
AntP (43-58)	RQIKIWFQNRRMKWKK	2
VP22 (267-300)	DAATATRGRSAASRPTERDRAPARSASRPRRPVE	3
SV40-NLS	PKKKRKV	4
뉴클레오플라스민	KRPAAIKKAGQAKKKKC	5
NF-κB	PMLKQRKRQA	6
HIV-1 Rev (34-50)	RQARRNRRRRWRERQRG	7
FHV 코트(Coat) (35-49)	RRRNRTTRNNRRRVRRGC	8

<10> 이러한 단백질들은 세포에 존재하는 특정의 수용체(receptor)나 수송체(transporter)에 의한 선택적 투과와 무관하게 세포 내로 이동할 수 있는 것으로 보이는데, 상기 단백질들의 PTD들이 갖는 공통적인 구조적 특성은 상당수의 염기성 아미노산 잔기로 구성되어 있고, 특히 아르기닌이나 리신이 많다는 것이다.

<11> 이들의 세포막 투과 기작에 대해서는 다양한 의견들이 있는데, 최근 연구에 의하면 PTD를 갖는 세포 투과성 펩타이드들은 세포의 내포작용(endocytosis)에 의해 세포 내로 통과될 가능성이 높은 것으로 제안되고 있다. 레블레유(Lebleu) 등은 태트 (AA 48-60)와 아르기닌 9량체(Arg₉)가 세포의 내포작용에 의해 세포 내로 이동된다는 것을 형광 활성화 세포 분류(FACS) 분석을 통해 연구하였으나, 그 자세한 기작은 아직 규명되지 않고 있다(*Lebleu, B., Biol. Chem.*, 278, 585, (2003)).

<12> 또한, 태트와 같이 높은 세포막 투과성을 갖기 위해 아르기닌이 풍부한 올리고머들을 합성하여 분자 수송체로 응용하기 위한 다양한 연구들이 시도되어 왔다. 예를 들면, 1991년 만(Mann) 등은 태트 단백질을 사용하여 세포내 전달 효율이 증가될 수 있음을 보여주었다. 그러나, 태트 단백질이 세포 표면에 강하게 결합하여 세포 내로 들어가는 태트 단백질의 수가 실질

적으로 적고, 태트 단백질이 웅집하거나 불용성을 갖는 문제점이 있음도 함께 보고하였다 (Mann, D. A., Frankel, A. D., *EMBO J.*, 10, 1733 (1991)).

<13> 1994년, 바르소움(Barsoum) 등이 태트 단백질의 일부분인 보다 짧은 태트 (AA 1-72) 펩타이드와 염기성 잔기를 포함하는 또 다른 영역의 태트 (AA 37-58) 펩타이드를 사용하여 세포 내 전달 효율을 비교한 결과, 이들은 우수한 세포내 전달 효율을 나타내었다. 이는 염기성 잔기를 갖는 작은 펩타이드들이 세포막이나 핵막을 매우 효율적으로 통과하는데 기여함을 보여주는 것이다(Barsoum, J., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 91, 664 (1994)).

<14> 후타키(Futaki) 등은 아르기닌이 풍부한 다양한 펩타이드들에 형광 물질을 붙여 이들의 마우스 마크로파지 RAW264.7 세포에 대한 막투과 정도를 연구하였다. 그 결과, 아르기닌이 풍부한 펩타이드들이 태트 (AA 49-57)와 매우 유사한 막투과 활성도를 보이고, 가장 효율적인 세포막 투과성을 나타내는 것은 8개의 아르기닌 잔기를 갖는 올리고머인 것을 알아내었다 (Futaki, S. et al., *J. Biol. Chem.*, 276, 5836 (2001)). 이는 아르기닌 즉, 아르기닌의 구아니디늄기가 세포막을 통과하는데 중요한 요소라는 것을 암시한다.

<15> 따라서, 아미노산의 키랄리티(chirality), 측쇄 길이, 골격구조와의 공간에 따라 올리고머 내에서 구아니디늄기의 구조적인 자유도가 다양해질 수 있다는 점을 이용하여 웬더(Wender) 등은 펩토이드(peptoid) 분자 수송체를 개발하였다. 구체적으로는, 태트 (AA 49-57), 알라닌 서브유니트 펩타이드들, AntP (AA 43-58), L-아르기닌 (R5-R9), D-아르기닌 (r5-r9) 등의 다양한 구조에 형광 물질을 붙여 주르카트(Jurkat) 세포에 투여한 후 FACS를 사용하여 세포막 투과성을 관찰한 결과, L-아르기닌의 9량체가 태트(AA 49-57)보다 세포내 전달 효율이 20배 정도 효율적이고, D-아르기닌의 9량체 또한 매우 큰 세포내 전달 효율을 보임을 알아내었다. 상기 결과로부터, 구아니디늄기를 갖는 펩토이드의 투과성은 키랄리티나 골격구조에 의해 크게 영향

받지 않음을 알 수 있다[대한민국 특허 공보 10-7010772, 미국특허 제 6,495,663 호, Wender, P. A. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 97, 13003 (2000)].

<16> 그러나, 폴리아르기닌 펩타이드나 펩토이드 분자들은 생체 내에 존재하는 다양한 효소에 의해 빠른 속도로 대사되고, 간과 콩팥을 통해 제거되는 속도가 매우 빠르며, 생체 내에서 독성을 야기할 수 있다는 단점이 있다.

<17> 또한, 구아니디늄기를 갖는 펩토이드나 펩타이드는 높은 염기성 하에서는 나선구조로 존재하고 중성에서는 비나선 구조를 가질 것으로 예상되기 때문에, 세포막 투과성을 갖는 것은 수송체의 2-3차원적 구조보다는 양성으로 하전된 구아니디늄기에 더 많이 기인하는 것으로 이해할 수 있다.

<18> 이에, 본 발명자들은 인체에 존재하는 골격구조이면서 양성으로 하전된 구아니디늄기를 높은 농도로 도입할 수 있는, *myo*-이노시톨을 출발물질로 하고 여기에 구아니디늄기를 도입하여 제조된 이노시톨 유도체가 생체막 투과성이 우수하여 생리활성을 갖는 다양한 분자의 수송체로 사용될 수 있음을 발견하고 본 발명을 완성하게 되었다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

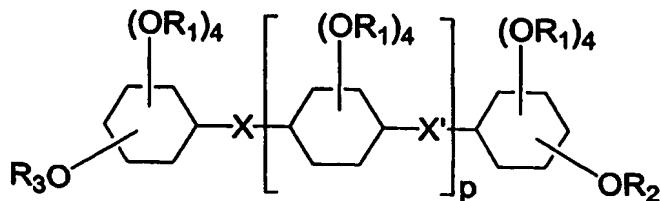
<19> 본 발명의 목적은 생체막 투과성이 우수한 이노시톨 유도체 및 그의 제조방법을 제공하는 것이다.

<20> 본 발명의 다른 목적은 상기 이노시톨 유도체를 포함하는, 세포 내로 의약품을 수송하기 위한 조성물을 제공하는 것이다.

【발명의 구성 및 작용】

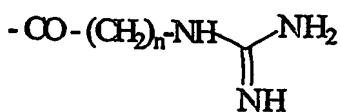
<2> 상기 목적에 따라 본 발명에서는, 하기 화학식 1로 표시되는 이노시톨 유도체를 제공한다:

<22> 【화학식 1】



<23> 상기 식에서,

24



R_1 은

이고, 여기에서, n 은 1 내지 12 범위의 정수이며;

<25> R₂ 및 R₃는 각각 독립적으로 H, 알킬, 아릴알킬, 시클로알킬, 헤테로알킬 -(CH₂) NHR'

$-(CH_2)_1CO_2R'$, $-COR''$ 또는 $-SO_2R'''$ 이고, 여기에서 R' , R'' , R''' 및 R'''' 은 액체이며

■은 2 내지 5 범위의 점수이고 □은 1 내지 5 범위의 점수이며:

<26> n 는 0, 1, 2, 범위의 정수입니다.

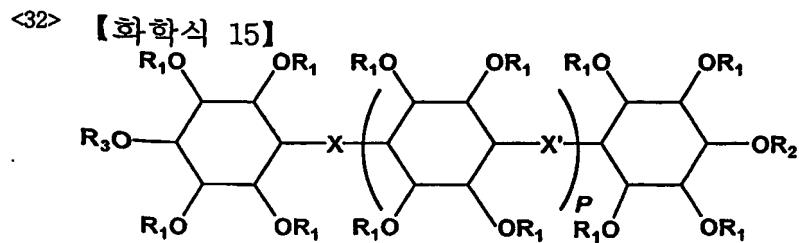
<27> X 및 X'는 각각 독립적으로 $-O-CO-O-$, $-O-CO-NH-(CH_2)_m-O-$, $-O-CO-(CH_2)_1-O-$ 또는 $-O-(CH_2)_1-CO-NH-(CH_2)_m-O-$ 이고, 여기에서, m은 2 내지 5 범위의 정수이고, 1은 1 내지 5 범위의 정수이다.

<28> 또한, 본 발명에서는, i) *myo*-이노시톨의 히드록시기에 보호기들을 도입하여 중간체를 얻는 단계; ii) 단계 i)에서 얻은 중간체를 커플링하여 이노시톨 중합체 형태의 화합물을 얻는 단계; iii) 아실화 반응을 수행하여 단계 ii)에서 얻은 화합물에 아미노산을 도입하는 단계; 및 iv) 단계 iii)에서 얻은 화합물의 아미노산의 N-말단에 구아니디늄기를 도입하는 단계를 포함하는, 상기 화학식 1로 표시되는 이노시톨 유도체의 제조방법을 제공한다.

<29> 이하 본 발명에 대하여 보다 상세히 설명한다.

<30> 본 발명의 화학식 1의 이노시톨 유도체는 이노시톨 골격구조에 다양한 측쇄 길이를 갖는 구아니디늄기가 도입된 형태로서, 각 작용기의 위치관계에 따라 다양한 이성질체(isomer)가 존재할 수 있다. 또한, 본 발명의 화학식 1의 이노시톨 유도체는 이노시톨 다이머(dimer)(p=0인 경우), 이노시톨 트라이머(trimmer)(p=1인 경우), 이노시톨 테트라마터(tetramer)(p=2인 경우) 및 그 이상의 중합체 형태(p=3 이상인 경우)일 수 있으며, 이노시톨 다이머, 트라이머 형태가 테트라마터보다 바람직하며, 이노시톨 다이머, 트라이머인 것이 가장 바람직하다. 상기 화학식 1의 화합물에서, n이 3 내지 8 범위의 정수인 화합물들이 우수한 세포내 전달 효율을 나타내므로 특히 바람직하다.

<31> 본 발명에 따른 이노시톨 유도체의 보다 구체적인 예로 하기 화학식 15의 이노시톨 유도체를 들 수 있다:

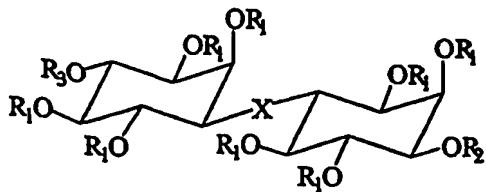


<33> 상기 식에서,

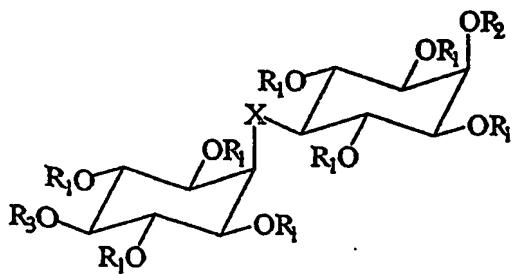
<34> R_1 , R_2 , R_3 , X , X' 및 p 는 상기에서 정의한 바와 같다.

<35> 이노시를 다이머 형태($p=0$ 인 경우)의 화학식 1의 화합물의 바람직한 예로는 하기 화학식 2 내지 4의 이노시를 유도체를 들 수 있다:

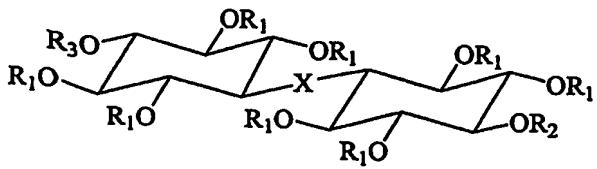
<36> 【화학식 2】



<37> 【화학식 3】



<38> 【화학식 4】



<39> 상기 식에서,

<40> R_1 , R_2 , R_3 및 X 는 상기에서 정의한 바와 같다.

<41> 상기 화학식 2 내지 4의 이노시를 유도체의 R_2 및 R_3 는 본 발명의 이노시를 유도체와 결합하여 세포 내로 수송되는 치료용 의약품 및 진단용 의약품의 작용기일 수 있으며, 여기서 의

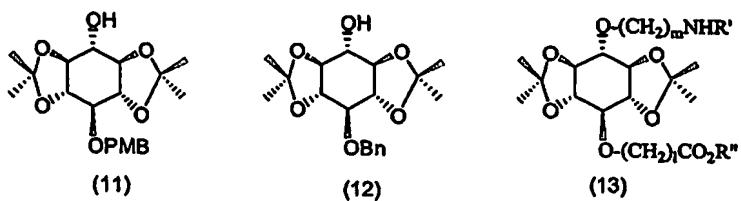
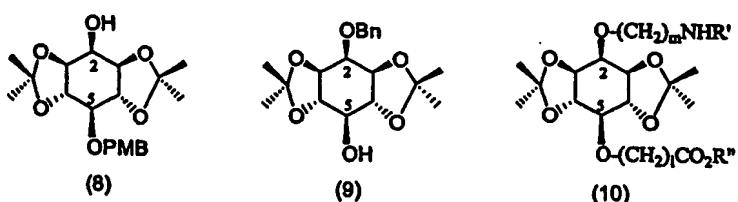
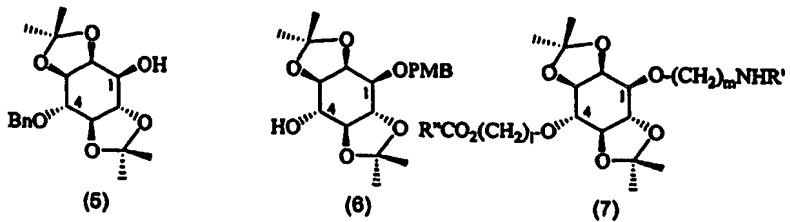
약품은 분자량이 100 내지 1,500 g /mol인 유기화합물과 패티드 및 핵산 등과 같은 고분자 화합물을 포함한다.

<42> 본 발명에 따른 이노시를 유도체는 상기 화학식 2 내지 4에 나타난 바와 같이 카보네이트기, 카바메이트기, 에스테르기 또는 아마이드기로 연결된 형태의 이노시를 다이머 골격에 다양한 측쇄길이를 갖는 구아니디늄기가 도입된 구조인 것이 바람직하며, 진단시약, 의약품 또는 형광물질 등과 같은 다양한 종류의 생리활성을 갖는 화합물들과 결합된 형태로 세포막, 핵막, 혈액-뇌 장벽(blood-brain barrier) 등과 같은 생체막을 용이하게 통과할 수 있다.

<43> 상기 화학식 2 내지 4로 표시되는 이노시를 유도체는 i) *myo*- 또는 *scylio*-이노시를의 히드록시기에 보호기들을 도입하여 중간체를 얻는 단계; ii) 단계 i)에서 얻은 중간체를 커플링하여 이노시를 중합체 형태의 화합물을 얻는 단계; iii) 아실화 반응을 수행하여 단계 ii)에서 얻은 화합물에 아미노산을 도입하는 단계; 및 iv) 단계 iii)에서 얻은 화합물의 아미노산의 N-말단에 구아니디늄기를 도입하는 단계를 포함하는 방법에 의해 제조될 수 있다.

<44> 먼저, 단계 i)에서는 *myo*- 또는 *scylio*-이노시를의 히드록시기에 위치 선택적으로 서로 다른 보호기를 도입할 수 있으며, 위치 선택적인 보호기의 도입 방법은 예를 들어 문현 ["인산 이노시를-화학 및 생리학적 고찰" 정성기, 장영태, 대우학술총서, 자연과학 122, 민음사 1998]에 기재된 방법으로 실시할 수 있다. 단계 i)에서 얻어진 중간체들의 바람직한 예로서는 하기 화학식 5 내지 13의 화합물들을 들 수 있다:

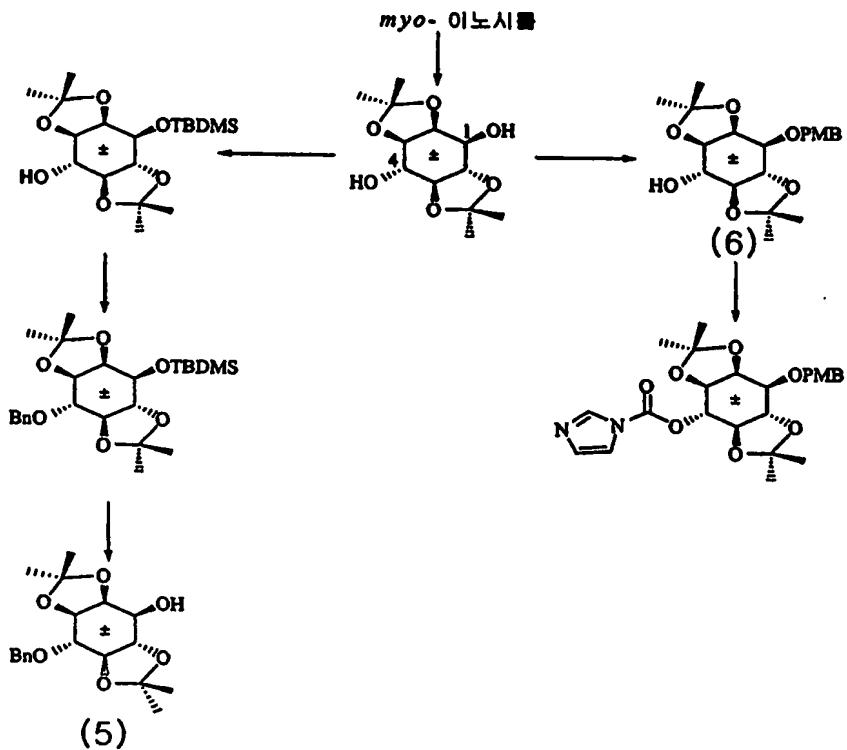
<45>



<46> 상기 식에서, R', R'', l 및 m은 상기에서 정의한 바와 같으며, Bn은 벤질이고, PMB는 *p*-메톡시벤질이다.

<47> 상기 화학식 5 내지 7의 화합물은 본 발명의 화학식 2의 화합물을 제조하기 위한 중간체로서, 그 중 화학식 5 및 6의 화합물은 하기 반응식 1에 도시한 바와 같이, *myo*-이노시톨을 출발물질로 하여 2,3:5,6-디-0-이소프로필리덴-*myo*-이노시톨을 합성한 후 1-OH 또는 4-OH에 위치 선택적으로 각각 다른 보호기를 도입하여 제조할 수 있다.

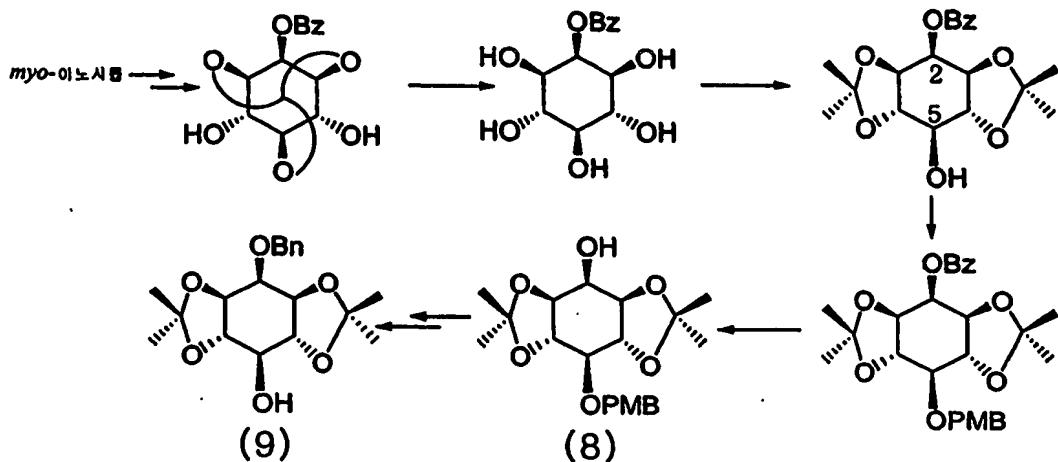
<48> 【반응식 1】

<49> 상기 식에서, TBDMS는 *tert*-부틸디메틸실릴이고, PMB는 *p*-메톡시벤질이며, Bn은 벤질이다.

<50> 화학식 2의 화합물의 출발물질인 *myo*-이노시톨은 값이 비교적 싸고 중간체인 화학식 5 내지 7의 화합물의 제조과정이 단순하다는 이점이 있다. 하지만, 상기 나타난 바와 같이 입체 이성질체(diastereomer)의 혼합물로 제조되므로 순수한 한 가지 형태의 이성질체만을 얻기 위해 화학식 3 및 4의 화합물을 활용할 수 있다.

<51> 상기 화학식 8 내지 10의 화합물은 본 발명의 화학식 3의 화합물을 제조하기 위한 중간 체로서, 그 중 화학식 8 및 9의 화합물은 *myo*-이노시톨을 출발물질로 하되 화학식 5 및 6의 화합물을 제조할 때와는 달리 1,6:3,4-디-0-이소프로필리텐-*myo*-이노시톨을 제조한 후 2-OH 또는 5-OH에 위치 선택적으로 각각 다른 보호기를 도입하여 제조할 수 있으며, 그 제조과정은 하기 반응식 2에 도시한 바와 같다.

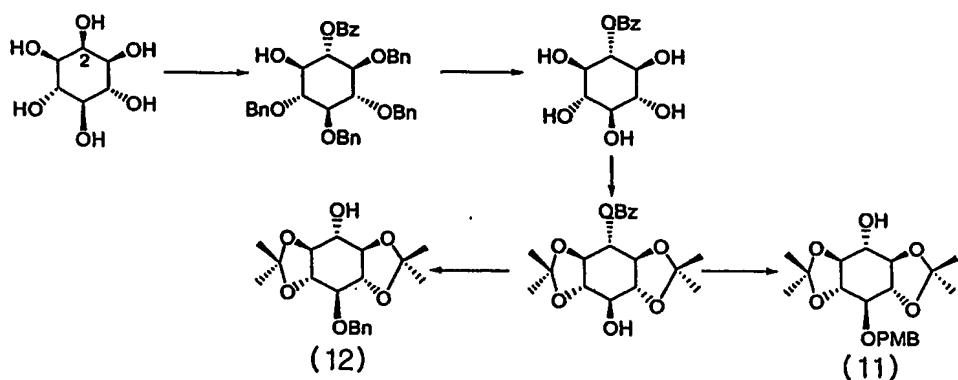
<52> 【반응식 2】



<53> 상기 식에서, Bz는 벤조일이고, PMB 및 Bn은 반응식 1에서 정의한 바와 같다.

<54> 또한, 화학식 11 내지 13의 화합물은 본 발명의 화학식 4의 화합물을 제조하기 위한 중간체로서, 그 중 화학식 11 및 12의 화합물은 미쓰노부 반응(Mitsunobu reaction)을 통해 *myo*-이노시톨의 2-OH의 입체화학을 반전시킨 다음, 1,6:3,4-디-*O*-이소프로필리デン-*scyllo*-이노시톨을 제조한 후, 2-OH 또는 5-OH에 위치 선택적으로 각각 다른 보호기를 도입하여 제조할 수 있으며, 그 제조과정은 하기 반응식 3에 도시한 바와 같다.

<55> 【반응식 3】

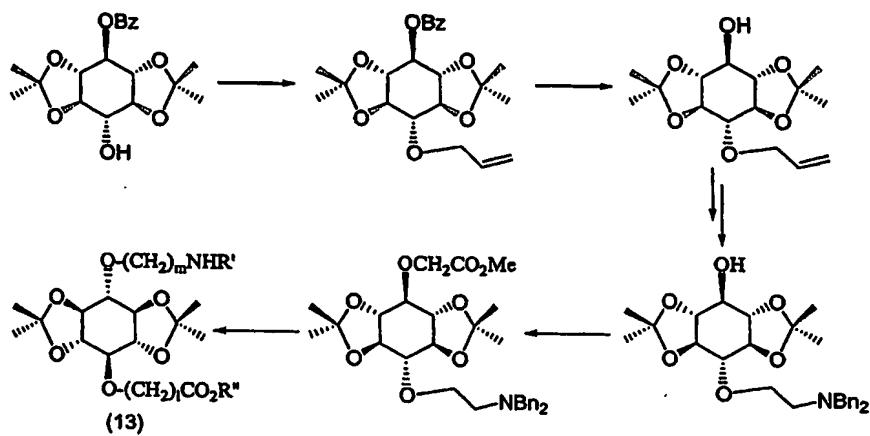


<56> 상기 식에서, Bz은 벤조일이고, Bn은 벤질이며, PMB는 *p*-메톡시벤질이다.

<57> 상기 제조공정(반응식 2 및 3)으로 순수한 한 가지 형태의 이성질체만을 얻을 수 있다.

<58> 또한, 카복실레이트기 및 아민기를 포함하는 화학식 7, 10 및 13의 화합물은, 반응식 1 내지 3의 과정으로 얻은 1개의 히드록시기만을 갖는 중간체(화합물 5, 6, 8, 9, 11 및 12)를 위치선택적으로 알킬화(alkylation)시켜 제조할 수 있으며, 예를 들어 화학식 13의 화합물의 제조과정을 구체적으로 나타내면 하기 반응식 4에 도시한 바와 같고, 화학식 7 및 10의 화합물도 이와 유사한 과정을 수행하여 제조할 수 있다.

<59> 【반응식 4】



<60> 상기 식에서, R', R'', i 및 m은 화학식 2 내지 4에서 정의한 바와 같고, Bn은 벤질이고, Bz는 벤조일이다.

<61> 단계 ii)에서는, 단계 i)에서 얻은 중간체들을 각기 다른 조합으로 문헌에 공지된 일반적인 방법([The Chemical Synthesis of Peptides, J. Jones, Clarendon Press, Oxford, 1991] 참조)에 따라 다양한 작용기(X)를 이용하여 커플링시킨 후 아세토나이드 보호기를 제거함으로써 이노시톨 중합체 형태의 화합물을 얻을 수 있다. 상기 작용기(X 및 X')는 이노시톨 단위유도체를 서로 커플링시켜 주는 링커 역할을 하는 것으로서, 통상 단위 화합물을 커플링시키는데



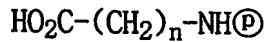
출력 일자: 2004/3/22

사용되는 것이라면 제한없이 사용될 수 있으나, 특히 $-O-CO-O-$, $-O-CO-NH-(CH_2)_m-O-$, $-O-CO-(CH_2)_1-O-$ 또는 $-O-(CH_2)_1-CO-NH-(CH_2)_m-O-$ (여기에서, m 은 2 내지 5 범위의 정수이고, 1은 1 내지 5 범위의 정수임)인 것이 바람직하다.

<62> 한편, 단계 iii)에서는, 단계 ii)에서 얻은 중합체 형태의 화합물을 옹축제(condensing agent), 예를 들면 디사이클로헥실카보디이미드 또는 1-[3-(디메틸아미노)프로필]-에틸카보디이미드 하이드로클로라이드 존재 하에 아미노보호기, 예를 들어 *t*-Boc (*tert*-butyloxycarbonyl)기로 보호된 다양한 측쇄 길이를 갖는 아미노산과 아실화 반응시켜 아미노산이 도입된 화합물을 제조할 수 있다.

<63> 본 발명에 사용되는 다양한 측쇄 길이를 갖는 아미노산은 상업적으로 이용 가능한 ω -아미노산으로부터 얻을 수 있으며, 상기 ω -아미노산의 아미노기를 적절한 아미노보호기로 보호한([Protective Groups in Organic Synthesis 3rd Ed. T. W. Greene and P. G. M. Wuts, Wiley-Interscience, 1999] 참조), 하기 화학식 14로 표시되는 아미노알칸산(aminoalkanoic acid)인 것이 바람직하다.

<64> 【화학식 14】



<65> 상기 식에서, n 은 1 내지 12 범위의 정수이며, \textcircled{P} 는 아미노 보호기이다.

<66> 상기 아실화 반응은 단계 ii)에서 얻은 화합물 1 당량당 화학식 14의 화합물 10 내지 20 당량을 넣고 0 내지 60 °C 범위의 온도에서 5 내지 96시간 동안 수행할 수 있다.

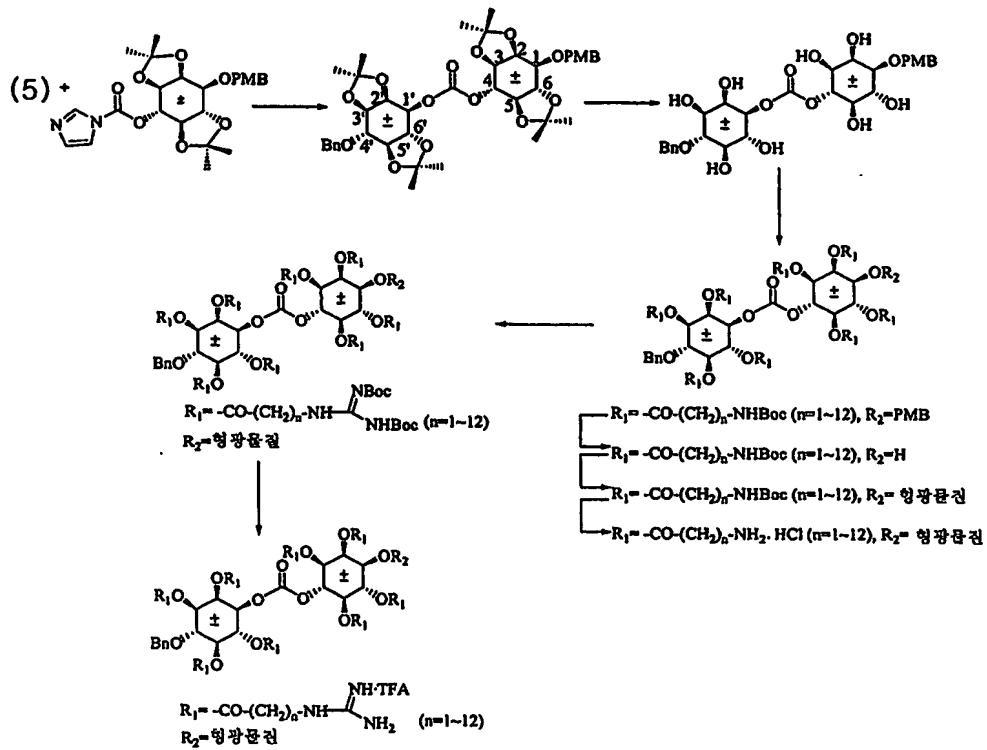
<67> 단계 iv)에서는, 단계 iii)에서 얻은 화합물에 존재하는 아미노산 말단의 보호기를 제거한 후, 이를 유기용매 중에서 염기 존재 하에 N,N-디-Boc-N'-트리플루오로메탄설포닐구아니딘

과 반응시켜 구아니디늄기를 도입할 수 있다. 상기 N,N-디-Boc-N'-트리플루오로메탄설포닐구아닌은 문헌 [T. T. Baker, N. W. Luedtke, Y. Tor, M. Goodman. J. Org. Chem. 2000, 65, 9054]에 공지된 방법에 따라 제조할 수 있으며, 그 구체적인 제조과정은 제조예 10 및 11에 나타낸 바와 같다.

<68> 상기 단계에 사용되는 유기용매로는 N,N-디메틸포름아미드, 클로로포름, 에틸아세테이트 등을 예로 들 수 있고, 염기로는 트리에틸아민 등을 예로 들 수 있으며, 상기 반응은 0 내지 60 °C의 온도에서 12 내지 120시간 동안 수행할 수 있다.

<69> 상기 단계 ii) 내지 iv)에서, 화학식 5 내지 13의 중간체들이 각기 다른 조합으로 커플링되어 화학식 2 내지 4의 화합물로 변환될 수 있다. 본 발명에 따른 이노시를 유도체를 제조하는 방법의 한 예를 도식화하여 설명하면 하기 반응식 5와 같다.

<70> 【반응식 5】



<71> 상기 식에서, R_1 , R_2 및 n 은 상기에서 정의한 바와 같다.

<72> 상기 반응식 5에 도시한 바와 같이 화학식 5의 화합물과 화학식 6의 화합물을 응축제를 사용하여 커플링 반응시킴으로써 카보네이트($X=-O-CO-O-$)기로 연결된 이노시를 다이머 골격에 구아니디늄기가 도입된 구조의 이노시를 유도체를 제조할 수 있다. 구체적으로는, 화학식 6의 화합물에 카보닐이미다졸기가 도입된 화합물을 화학식 5의 화합물과 커플링시킨 후 아세토나이트 보호기를 제거하고, 아실화(acylation) 반응을 통해 t-Boc (tert-butyloxycarbonyl)기로 보호된 다양한 길이의 아미노산(R_1 에 해당)을 도입한 후 PMB 보호기를 제거하고, 형광물질, 예컨대 댄실(dansyl, 5-디메틸아미노-1-나프탈렌설포닐(5-dimethylamino-1-naphthalene sulfonyl))기(R_2 에 해당)로 표지하고, 아민 말단의 t-Boc보호기를 제거한 다음 구아니디늄기를 도입하여 본 발명의 이노시를 유도체를 제조할 수 있다.

<73> 또한, 상기에서 얻은 형광물질이 표지된 화합물의 벤질 보호기를 제거한 후 세포 내로 수송하려는 진단시약, 의약품(R_3 에 해당) 등을 커플링시킬 수 있다.

<74> 상기와 유사하게 이노시를 골격들이 에스테르($X= -O-CO-(CH_2)_1-O-$), 아마이드($X= -O-(CH_2)_1-CO-NH-(CH_2)_m-O-$), 카바메이트($X= -O-CO-NH-(CH_2)_m-O-$)로 연결된 중합체들도 상기 언급한 일반적인 방법([The Chemical Synthesis of Peptides, J. Jones, Clarendon Press, Oxford, 1991] 참조)으로 제조할 수 있다.

<75> 상기 예시한 중간체 외의 다른 모든 중간체(화학식 5 내지 13의 화합물 포함)도 상기 반응과정과 유사한 방법으로 커플링시킨 후 다양한 측쇄 길이를 갖는 아미노산을 함유하는 구아니디늄기를 도입하여 본 발명의 화학식 1의 화합물을 제조할 수 있다.

<76> 본 발명의 이노시를 유도체들은 생리활성을 갖는 화합물, 의약품, 진단시약 등과 공유결합이나 이온결합을 통해 결합된 상태로 세포막, 핵막 및 혈관-뇌 장벽 등의 생체막을 투과할 때 높은 투과성을 나타내므로, 다양한 종류의 치료용 및 진단용 의약품, 및 단백질 및 유전자와 같은 거대분자를 세포내로 수송시키는 데 유리하다.

<77> 이하 본 발명을 하기 실시예에 의거하여 보다 상세하게 설명하고자 한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

<78> 제조예 1: (\pm -1,4-디-O-벤조일-2,3:5,6-디-O-이소프로필리텐-*myo*-이노시톨의 제조

<79> *myo*-이노시톨 (50 g, 278 mmol), 2,2-디메톡시프로판 (150 ml, 1.2 mol) 및 *p*-톨루엔설 폰산 (1 g, 5.2 mmol)을 *N,N*-디메틸포름아미드 (200 ml)에 녹인 후 21시간 동안 100 °C에서 환류시켰다. 반응물을 상온으로 식힌 다음 트리에틸아민 (10 ml)을 넣고 침전물을 여과한 후 틀루엔 (25 ml)을 넣고 감압 휘발하였다. 얻은 반응물을 피리딘 (150 ml)에 녹이고 0 °C에서 벤조일클로라이드 (200 ml, 1.74 mol)를 30분 동안 시린지(syringe)로 적가하였다. 이어서, 반응액을 상온에서 2시간 동안 교반한 후 침전물을 여과하고, 걸러진 침전물을 피리딘, 물, 아세톤 및 디에틸에테르 순으로 세척하여 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (35.55 g)을 얻었다.

<80> m.p. = 322-325 °C

<81> $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1.30, 1.43, 1.50, 1.63 (4s, 3H), 3.73 (dd, J = 9.6 Hz, 11.1 Hz, 1H), 4.36 (dd, J = 9.6 Hz, 10.6 Hz, 1H), 4.41 (dd, J = 4.5 Hz, 9.6 Hz, 1H), 4.78 (dd, J = 4.5 Hz,

4.5 Hz, 1H), 5.42 (dd, J = 4.5 Hz, 10.6 Hz, 1H), 5.60 (dd, J = 9.6 Hz, 11.1 Hz, 1H), 7.45 (m, 5H)

<82> 제조예 2: (\pm -2,3:5,6-디- O -이소프로필리텐-*myo*-이노시톨의 제조

<83> 제조예 1에서 얻은 (\pm -1,4-디- O -벤조일-2,3:5,6-디- O -이소프로필리텐-*myo*-이노시톨 (35.5 g, 75.8 mmol) 및 NaOCH₃ (2.41 g, 45.48 mmol)을 CH₃OH (500 ml)에 녹인 후 16시간 동안 환류시켰다. 반응물을 상온으로 식힌 후 칼륨 휘발하고 CH₂Cl₂ (700 ml)를 첨가한 후 녹지 않는 고체상 화합물을 여과해내고, 여과액을 농축하여 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (18.21 g)을 얻었다.

<84> m.p. = 169-171 °C

<85> ¹H-NMR (CDCl₃): 1.38, 1.46, 1.48, 1.54 (4s, 3H), 2.36 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 2.45 (d, J = 2.9 Hz, 1H), 3.32 (dd, J = 9.4 Hz, 10.5 Hz, 1H), 3.83 (dd, J = 9.4 Hz, 9.4 Hz, 1H), 3.90 (ddd, J = 2.9 Hz, 6.4 Hz, 10.5 Hz, 1H), 4.02 (ddd, J = 4.8 Hz, 8.8 Hz, 9.4 Hz, 1H), 4.08 (dd, J = 4.8 Hz, 6.4 Hz, 1H), 4.48 (dd, J = 4.8 Hz, 4.8 Hz, 1H)

<86> 제조예 3: (\pm -1- O -*t*-부틸디메틸실릴-2,3:5,6-디- O -이소프로필리텐-*myo*-이노시톨의 제조

<87> 제조예 2에서 얻은 (\pm -2,3:5,6-디- O -이소프로필리텐-*myo*-이노시톨 (6 g, 23 mmol) 및 이미다졸 (5.2 g, 76 mmol)을 *N,N*-디메틸포름아미드 (70 ml)에 녹인 후 0 °C에서 *tert*-부틸디메틸실릴 클로라이드 (3.8 g, 25 mmol)를 첨가한 다음 상온에서 14시간 동안 교반시켰다. 얻은 용액을 에틸아세테이트로 추출한 후 포화된

NaCl 및 NaHCO₃ 수용액으로 세척하고 MgSO₄로 건조시킨 다음 감압 휘발하여 농축시키고 관 크로마토그래피(에틸아세테이트:헥산 = 1:10 ~ 1:1)로 정제하여 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (5.84 g)을 얻었다.

<88> m.p. = 148-150 °C

<89> ¹H-NMR (CDCl₃): 0.14 (s, 6H), 0.93 (s, 9H), 1.35, 1.42, 1.44, 1.53 (4s, 3H), 2.87 (brs, 1H), 3.26 (dd, J = 9.4 Hz, 10.4 Hz, 1H), 3.87 (dd, J = 6.4 Hz, 10.4 Hz, 1H), 3.90 (dd, J = 9.4 Hz, 10.4 Hz, 1H), 3.97 (dd, J = 4.4 Hz, 4.6 Hz, 1H), 4.03 (dd, J = 4.4 Hz, 10.4 Hz, 1H), 4.29 (dd, J = 4.4 Hz, 4.4 Hz, 1H)

<90> 제조예 4: (±)-4-O-벤질-2,3:5,6-디-O-이소프로필리デン-1-O-t-부틸디메틸실릴-mylo-이노시톨의 제조

<91> 제조예 3에서 얻은 (±)-1-O-t-부틸디메틸실릴-2,3:5,6-디-O-이소프로필리덴-mylo-이노시톨 (5.76 g, 15 mmol)을 CH₂Cl₂ (100 ml)에 녹인 후 산화은(I) (10.7 g, 46 mmol), 벤질브로마이드 (5.47 ml, 46 mmol) 및 테트라부틸암모늄 아이오다디드 (0.55 g, 1.5 mmol)를 가하고 상온에서 2시간 동안 교반시켰다. 얻어진 용액을 셀라이트에 여과시키고 CH₂Cl₂로 세척한 후 여과 액을 감압 휘발하여 농축시키고 관 크로마토그래피(에틸아세테이트:헥산 = 1:40)로 정제하여 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (4.91 g)을 얻었다.

<92> m.p. = 89 °C

<93> ¹H-NMR (CDCl₃): 0.12 (s, 6H), 0.90 (s, 9H), 1.31, 1.35, 1.40, 1.41 (4s, 3H), 3.31 (t,

$J = 9.7 \text{ Hz}$, 1H), 3.65 (dd, $J = 6.6 \text{ Hz}$, 10.4 Hz, 1H), 3.85 (t, $J = 9.3 \text{ Hz}$, 1H), 3.98 (dd, $J = 4.3 \text{ Hz}$, 10.1 Hz, 1H), 4.07 (t, $J = 5.6 \text{ Hz}$, 1H), 4.27 (t, $J = 5.6 \text{ Hz}$, 1H), 4.80 (s, 2H), 7.21-7.40 (m, 5H)

<94> MS (FAB) m/z 465.21 (M++ H)

<95> 제조예 5: (\pm -4-O-벤질-2,3:5,6-디-O-이소프로필리덴-*myo*-이노시톨(화학식 5의 화합물)의 제조

<96> 제조예 4에서 얻은 (\pm -4-O-벤질-2,3:5,6-디-O-이소프로필리덴-1-O-t-부틸디메틸실릴-*myo*-이노시톨 (4.6 g, 9.9 mmol)을 테트라하이드로퓨란에 녹인 후 테트라부틸암모늄 플루오라이드 (1.0 M 용액 in THF, 29.7 ml, 29.7 mmol)를 가하고 상온에서 7시간 동안 교반시켰다. 얻어진 용액을 에틸아세테이트로 추출한 다음 포화된 NaCl수용액으로 세척하고 유기층을 $MgSO_4$ 로 건조시킨 후 감압 휘발하여 농축시킨 다음 헥산(hexane)으로 재결정하여 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (3.7 g)을 얻었다.

<97> m.p. = 131 °C

<98> $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1.33, 1.36, 1.43, 1.46 (4s, 3H), 2.40 (d, $J = 8.4 \text{ Hz}$, 1H), 3.39 (t, $J = 9.6 \text{ Hz}$, 1H), 3.65 (dd, $J = 6.4 \text{ Hz}$, 10.4 Hz, 1H), 3.78 (t, $J = 9.8 \text{ Hz}$, 1H), 3.94-4.02 (m, 1H), 4.18 (t, $J = 5.6 \text{ Hz}$, 1H), 4.24 (t, $J = 4.9 \text{ Hz}$, 1H), 4.80 (s, 2H), 7.22-7.40 (m, 5H)

<99> 제조예 6: (\pm -1-O-p-메톡시벤질-2,3:5,6-디-O-이소프로필리덴-*myo*-이노시톨(화학식 6의 화합물)의 제조

<100> 제조예 2에서 얻은 (\pm -2,3:5,6-디-O-이소프로필리덴-*myo*-이노시톨 (5.59 g, 20 mmol)을 *N,N*-디메틸포름아미드 (90 ml)에 녹인 후 NaH (0.96 g, 40 mmol) 및 *p*-메톡시벤질 클로라이드 (3.2 ml, 24 mmol)를 가하고 상온에서 교반시켰다. 10시간 뒤 반응이 종결되면 0 °C에서 물을加하여 반응을 중단시켰다. 얻어진 용액을 CH₂Cl₂로 추출한 후 포화된 NaHCO₃ 수용액으로 세척하고 유기층을 MgSO₄로 건조시킨 다음 감압 휘발하여 농축시키고 판 크로마토그래피(에틸아세테이트:헥산 = 1:2 ~ 1:1)로 정제하여 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (2.2 g)을 얻었다.

<101> m.p. = 153–154 °C

<102> ¹H-NMR (CDCl₃): 1.32, 1.44, 1.46, 1.52 (4s, 3H), 2.27 (d, *J* = 2.5 Hz), 3.24 (dd, *J* = 10.1 Hz, 10.1 Hz, 1H), 3.75 (dd, *J* = 4.3 Hz, 10.1 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.83–3.92 (m, 2H), 4.01 (dd, *J* = 10.1 Hz, 10.1 Hz, 1H), 4.27 (dd, *J* = 4.3 Hz, 4.3 Hz, 1H), 4.71 (dd, *J* = 12.1 Hz, 1H), 4.82 (d, *J* = 12.1 Hz, 1H), 6.86 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.32 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H)

<103> 제조예 7. 4-Boc-아미노부탄산(4-Boc-aminobutanoic acid)의 제조

<104> 4-아미노부탄산 (1 g, 9.7 mmol)을 *tert*-부틸알콜 (15 ml)에 녹인 후 5 N NaOH (1.93 ml, 9.7 mmol)를 가하고 상온에서 10분 동안 교반시켰다. 여기에 *tert*-부틸알콜 (17 ml)에 녹인 디-*tert*-부틸-디카보네이트(di-*tert*-butyl-dicarbonate) (2.33 g, 10.7 mmol)를 가하고 상온에서 24시간 동안 교반시켰다. 여기에 H₂O (12 ml)를 가한 후 감압 휘발하여 농축시킨 다음 0 °C로 냉각시키고 용액의 pH가 2가 될 때까지 2 N H₂SO₄를 적가하였다. 얻은 용액을 에틸

아세테이트로 추출하고 H_2O 로 세척한 후 유기층을 $MgSO_4$ 로 건조시킨 다음 감압 휘발하여 농축 시켜 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (2.1 g)을 얻었다.

<105> m.p. = 57-58 °C

<106> 1H -NMR ($CDCl_3$): 1.45 (s, 9H), 3.19 (m, 2H), 4.70 (brs, 1H)

<107> 제조예 8: 6-Boc-아미노헥산산(6-Boc-aminohexanoic acid)의 제조

<108> 6-아미노카프로산(6-aminocaproic acid) (10 g, 76 mmol)을 *tert*-부틸알콜 (100 ml)에 녹인 후 5N NaOH (15 ml, 76 mmol)를 가하고 상온에서 10분 동안 교반시켰다. 상기 반응액에 *tert*-부틸알콜 (100 ml)에 녹인 디-*tert*-부틸-디카보네이트 (18.3 g, 83 mmol)를 가한 후 상온에서 24시간 동안 교반시켰다. 여기에 H_2O (100 ml)를 가한 후 감압 휘발하여 농축시킨 다음 0 °C로 냉각시키고 용액의 pH가 2가 될 때까지 2 N H_2SO_4 를 적가하였다. 이어서, 얻은 용액을 에틸아세테이트로 추출하고 H_2O 로 세척한 후 유기층을 $MgSO_4$ 로 건조시킨 다음 감압 휘발하여 농축시키고 판 크로마토그래피(에틸아세테이트:톨루엔:초산 = 20:10:0.3)로 정제하여 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (17.9 g)을 얻었다.

<109> m.p. = 38-39 °C

<110> 1H -NMR ($CDCl_3$): 1.30 (m, 2H), 1.40 (s, 9H), 1.50 (m, 2H), 2.28 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 3.01 (m, 2H)

<111> 제조예 9: 8-Boc-아미노옥탄산(8-Boc-aminoctanoic acid)의 제조

<112> 8-아미노카프릴산(8-aminocaprylic acid) (970.3 mg, 6.1 mmol)을 *tert*-부틸알콜 (14.7 ml)에 녹인 후 5 N NaOH (1.44 ml, 6.1 mmol)를 가하고 상온에서 10분 동안 교반시켰다. 상기 반응액에 *tert*-부틸알콜 (10 ml)에 녹인 디-*tert*-부틸-디카보네이트 (1.46 g, 6.7 mmol)를 가하고 상온에서 24시간 동안 교반시켰다. 여기에 H₂O (10 ml)를 가한 후 감압 휘발하여 농축시킨 다음 0 °C로 냉각시키고 용액의 pH가 2가 될 때까지 2 N H₂SO₄를 적가하였다. 이어서, 얻은 용액을 에틸아세테이트로 추출하고 H₂O로 세척한 후 유기층을 MgSO₄로 건조시킨 다음 감압 휘발하여 농축시키고 관 크로마토그래피(에틸아세테이트:톨루엔:초산 = 20:10:0.3) 정제하여 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (1.78 g)을 얻었다.

<113> m.p. = 57-58 °C

<114> ¹H-NMR (CDCl₃): 1.30 (m, 6H), 1.45 (s, 9H), 1.46 (m, 2H), 1.63 (m, 2H), 2.34 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 3.10 (m, 2H)

<115> 제조예 10: *N,N*-Bis-Boc-구아니딘의 제조

<116> 구아니딘 염산(guanidine hydrochloride) (4 g, 42 mmol) 및 4 N NaOH (42 ml, 0.1 mol)를 1,4-디옥산 (80 ml)에 녹이고 0 °C로 냉각시켰다. 여기에 디-*tert*-부틸-디카보네이트 (20 g, 92.1 mol)를 가한 후 상온으로 올리고 18시간 동안 교반시켰다. 원래의 반응물 부피의 1/3이 되도록 감압 휘발시킨 후 물을 가하고 에틸아세테이트로 추출하였다. 얻어진 용액을 10% 시트르산, H₂O 및 포화된 NaCl 수용액 순으로 세척하고 MgSO₄로 건조시킨 후 감압 휘발하여 농축시키고 관 크로마토그래피(CH₂Cl₂ : MeOH = 20 : 1)로 정제하여 상기 표제 화합물 (6.47 g)을 얻었다.

<117> m.p. = 144-145 °C

<118> $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): 1.39 (s, 18H), 8.47 (brs, 2H), 10.42 (brs, 1H)

<119> 제조예 11: N,N -디-Boc- N' -트리플루오로메탄설포닐구아니딘(N,N -di-Boc- N' -trifluoromethanesulfonylguanidine)의 제조

<120> 제조예 10에서 얻은 N,N -Bis-Boc-구아니딘(6.05 g, 23 mmol)을 CH_2Cl_2 (40 ml)에 녹인 후 트리에틸아민(4.8 ml, 34.5 mmol)을 적가하고 -78 °C에서 트리플산 무수물(triflic anhydride) (3.9 ml, 25.3 mmol)을 주사기로 적가하였다. 얻은 용액을 4시간 동안에 걸쳐 상온으로 올린 후 상온에서 3시간 동안 교반시켰다. 이어서, 상기 용액을 2N NaSO_4 및 H_2O 로 세척하고 유기층을 Na_2SO_4 로 건조시킨 후 감압 휘발하여 농축시키고 관 크로마토그래피(CH_2Cl_2)로 정제한 후 헥산으로 채결정하여 흰색 고체상의 상기 표제 화합물(7.09 g)을 얻었다.

<121> m.p. = 114-115 °C

<122> $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): 1.45 (s, 18H), 11.45 (brs, 2H)

<123> 제조예 12: 2- O -벤조일- myo -이노시톨 오르토포메이트(2- O -benzoyl- myo -inositol orthoformate)의 제조

<124> myo -이노시톨(50 g, 278 mmol), 트리메틸 오르토포메이트(trimethyl orthoformate)(63 ml, 570 mmol) 및 p -톨루엔설폰산(2.0 g)을 N,N -디메틸포름아미드(200 ml)에 녹인 후 120 °C에서 7시간 동안 교반하였다. 얻은 용액을 50 °C에서 2시간 동안 감압증류한 후 피리딘(100 ml)을 가하고 0 °C에서 벤조일클로라이드(35 ml, 299 mmol)를 적가하였다. 얻은 용액을

상온에서 하루 동안 교반한 후 중류수 (10 ml)를 가하고 30분간 교반한 다음, 반응액을 에틸 아세테이트로 회석하고 포화된 NaHSO_4 , NaHCO_3 및 NaCl 수용액으로 씻어주었다. 이어서, 유기 층을 MgSO_4 로 건조한 후 여과하고 여과액을 농축한 뒤 에틸아세테이트로 재결정하여 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (35.5 g)을 얻었다.

<125> m.p. = 206-207 °C

<126> $^1\text{H-NMR}$ (acetone- d_6 , with drops of $D_2\text{O}$): δ 4.26 (m, 1H), 4.37 (m, 2H), 4.50 (t, J = 3.8 Hz, 2H), 5.52 (d, J = 1.3 Hz, 1H), 5.57 (app q, J = 1.9 Hz, 1H), 7.50-8.11(m, 5H)

<127> 제조예 13: 2-O-벤조일-*myo*-이노시톨의 제조

<128> 제조예 12에서 얻은 2-O-벤조일-*myo*-이노시톨 오르토포메이트 (10 g, 34 mmol)를 CH_3OH (200 ml)에 녹이고, *p*-톨루엔설폰산 (646 mg, 3.4 mmol)을 가한 후, 60 °C에서 3시간 동안 교반한 후 반응액의 온도를 상온으로 낮추고 하루 동안 방치하여 결정화한 다음, 생성된 고체를 여과하고 CH_3OH 및 에틸아세테이트로 씻어주어 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (8 g)을 얻었다.

129> m.p. = 240-242 °C

130> $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD - DMSO-d_6): δ 3.30 (t, J = 8.9 Hz, 1H), 3.66 (dd, J = 2.6, 9.7 Hz, 2H), 3.73 (dd, J = 8.9 Hz, 9.7 Hz, 2H), 5.69 (t, J = 2.6 Hz, 1H), 7.51-8.09 (m, 5H)

131> 제조예 14: 2-O-벤조일-1,6:3,4-디-O-이소프로필리덴-*myo*-이노시톨의 제조

<132> 제조예 13에서 얻은 2-O-벤조일-*myo*-이노시톨 (5.0 g, 17.6 mmol) 및 2-메톡시프로펜 (2-methoxypropene) (10.1 ml, 105.5 mmol)을 *N,N*-디메틸포름아미드 (100 ml)에 녹이고 0 °C에서 *p*-톨루엔설폰산 (335 mg, 1.76 mmol)를 서서히 나누어 가하였다. 상온에서 20시간 동안 교반한 후 반응액을 포화된 NaHCO₃ 수용액 (200 ml)에 부어 넣고 에틸아세테이트 (400 ml)로 추출한 다음, 추출한 유기층을 포화된 NaCl 수용액 (400 ml)으로 씻어주었다. 이어서, 유기층을 건조 (MgSO₄)시킨 후 농축하고 관 크로마토그래피(에틸아세테이트:헥산 = 1:3 ~ 1:1) 및 분별결정 (에틸아세테이트 및 n-헥산)을 수행하여 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (2 g)을 얻었다.

:133> m.p. = 181-183 °C

:134> ¹H-NMR(CDCl₃): δ 1.40, 1.48 (2s, 12H), 2.97 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 3.83 (dd, *J* = 2.1 Hz, 8.4 Hz, 2H), 4.09-4.15 (m, 3H), 6.06 (t, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.47-8.09 (m, 5H)

:135> MS (FAB) m/z = 387 (M⁺+ Na), 365 (M⁺+ H)

:136> 제조예 15: (\pm -2,3-O-이소프로필리덴-*myo*-이노시톨의 제조

:137> *myo*-이노시톨 (50 g, 277 mmol), 2,2-디메톡시프로판 (85 ml, 691 mmol) 및 *p*-톨루엔설폰산 (500 mg, 2.6 mmol)을 메틸설포사이드(methyl sulfoxide) (160 ml)에 녹인 다음 90-100 °C에서 1시간 동안 교반시켰다. 반응용액을 20 °C로 냉각시킨 후 에틸알콜 (200 ml) 및 에테르 (1 L)를 넣고 2시간 동안 교반시킨 다음 트리에틸아민 (10 ml)를 넣고 4시간 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면 여과한 후 CH₃OH/에테르 (1:5, 240 ml)로 세척하고 에틸알콜로 재결정하여 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (51 g)을 얻었다.

<138> m.p. = 165-166 °C

<139> $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 1.32, 1.47 (2s, 6H), 3.09 (app. t, J = 9.1 Hz, 1H), 3.53 (dd, J = 9 Hz, 9.3 Hz, 2H), 3.90 (app.t, J = 8.7 Hz, 1H), 4.34 (app. t, J = 9.3 Hz, 1H)

<140> 제조예 16: (\pm -1,4,5,6-테트라- O -벤질-2,3- O -이소프로필리덴-*myo*-이노시톨의 제조

<141> 제조예 15에서 얻은 (\pm -2,3- O -이소프로필리덴-*myo*-이노시톨 (20 g, 90.8 mmol) 및 NaH (47.5 g, 1090 mmol)를 N,N -디메틸포름아미드 (600 ml)에 녹인 후 0 °C에서 벤질브로마이드 (108.02 ml, 908 mmol)를 넣고 2시간 동안 교반한 다음 실온으로 올려 20시간 더 교반시켰다. 반응이 종결되면 에틸아세테이트로 추출하고 포화된 NaHCO_3 및 NaCl 수용액으로 세척한 후 MgSO_4 로 건조시킨 다음 감압 휘발하고 관 크로마토그래피 (에틸아세테이트:헥산 = 1:9)로 정제하여 시럽으로서의 상기 표제 화합물 (45 g)을 얻었다.

<142> $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 1.37, 1.55 (2s, 6H), 3.42 (t, J = 8.7 Hz, 1H), 3.88 (dd, J = 3.7 Hz, 8.8 Hz, 1H), 3.79 (dd, J = 7.0 Hz, 9.5 Hz, 1H), 3.99 (app. t, J = 8.5 Hz, 1H), 4.10 (app. t, J = 6.2 Hz, 1H), 4.27 (dd, J = 3.8 Hz, 5.5 Hz, 1H), 4.72-4.90 (m, 8H), 7.22-7.40 (m, 20H)

<143> 제조예 17: (\pm -1,4,5,6-테트라- O -벤질-*myo*-이노시톨의 제조

<144> 제조예 16에서 얻은 (\pm -1,4,5,6-테트라- O -벤질-2,3- O -이소프로필리덴-*myo*-이노시톨 (42 g, 72.38 mmol)을 80% 아세트산 수용액 (290 ml)에 녹이고 100 °C에서 3시간 동안 교반시킨 후

감압 휘발하여 농축시켰다. 이어서, 얻은 용액을 에틸아세테이트-헥산 (1:2) 용액으로 채결 정하여 정제된 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (36.5 g)을 얻었다.

<145> m.p. = 126.5-127 °C

<146> $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 2.40 (d, 4.5 Hz, 1H), 2.45 (s, 1H), 3.44-3.51 (m, 3H), 3.85 (app. t, J = 9.5 Hz, 1H), 4.0 (app. t, J = 9.5 Hz, 1H), 4.21 (brs, 1H), 4.7-4.97 (m, 8H), 7.25-7.40 (m, 20H)

<147> 제조예 18: (\pm -1-O-벤조일-2,3,4,5-테트라-O-벤질-*scylior*-이노시톨의 제조

<148> 제조예 17에서 얻은 (\pm -1,4,5,6-테트라-O-벤질-*myo*-이노시톨 (30 g, 55.53 mmol), 트리페닐포스핀(triphenyl phosphine) (17.5 g, 66.63 mmol), 벤조산 (8.1 g, 66.63 mmol) 및 디에틸아조디카르복실레이트(diethyl azodicarboxylate) (10.5 ml, 66.63 mmol)를 툴루엔 (300 ml)에 녹이고 80-85 °C에서 4시간 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면 여과하여 얻은 여과액을 감압 휘발하고 관 크로마토그래피 (에틸아세테이트:헥산 = 1:2)로 정제하여 고체상의 상기 표제 화합물 (30.8 g)을 얻었다.

<149> m.p. = 135-136 °C

<150> $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 2.45 (s, 1H), 3.55-3.77 (m, 5H), 4.7-5.0 (m, 8H), 5.39 (app. t, J = 9.8 Hz, 1H), 7.10-8.05 (m, 25H)

<151> 제조예 19: 1-O-벤조일-*scylior*-이노시톨의 제조

<152> 제조예 18에서 얻은 (\pm -1-O-벤조일-2,3,4,5-테트라-O-벤질-*scylior*-이노시톨 (8 g, 12.4 mmol) 및 20% $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (4.3 g)를 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ (1:2, 210 ml) 혼합

용액에서 H₂ (50 psi) 가스 하에 24시간 동안 혼합시켰다. 이어서, 염은 용액을 여과하고 감압 휘발한 후 CH₃OH로 재결정하여 고체상의 상기 표제 화합물 (3.6 g)을 얻었다.

<153> m.p. = 245-247 °C

<154> ¹H-NMR (CD₃OD): δ 3.30-3.40 (m, 3H), 3.55 (app. t, J = 9.2 Hz, 2H), 5.1(t, J= 9.7 Hz, 1H), 7.45-8.1 (m, 5H)

<155> 제조예 20: 1-O-벤조일-2,3:5,6-디-O-이소프로필리デン-scy//o-이노시톨의 제조

<156> 제조예 19에서 염은 1-O-벤조일-scy//o-이노시톨 (6 g, 21.11 mmol) 및 p-톨루엔설판산 (400 mg, 2.1 mmol)을 N,N-디메틸포름아미드 (100 ml)에 녹인 후 실온에서 2-메톡시프로펜 (10 ml, 105.6mmol)을 천천히 30분 동안 적가하였다. 염은 용액을 2시간 동안 교반시킨 후 2-메톡시프로펜 (10 ml, 105.6 mmol)을 적가한 다음 8시간 후 포화된 NaHCO₃ 수용액을 넣고 교반시킨 다음 에틸아세테이트로 추출하고 MgSO₄로 건조시킨 후 감압 휘발하였다. 이어서, 재결정(에틸아세테이트:헥산 2:1)하여 입체 이성질체를 서로 분리해낸 후 관 크로마토그래피 (에틸아세테이트:헥산 = 1:1)로 정제하여 상기 표제 화합물 (2.1 g)을 얻었다.

<157> m.p. = 284-286 °C

<158> ¹H-NMR (CDCl₃): δ 1.44, 1.48 (6H), 2.46 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 3.76 (app. t, J = 9.4 Hz, 2H), 3.88(app. t, J = 9.4 Hz, 2H), 4.13 (dt, J = 2.8 Hz, 8.8Hz), 5.7 (t, J = 9.3 Hz, 1H), 7.27-8.1 (m, 5H)

<159> 제조예 21:

4-O-(1-이미다졸릴카보닐옥시)-2,3:5,6-디-O-이소프로필리デン-1-O-p-메톡시벤질-myo-이노시톨의
제조

<160> 제조예 6에서 얻은 1-O-p-메톡시벤질-2,3:5,6-디-O-이소프로필리덴-myo-이노시톨 (2.2 g, 5.8 mmol)을 틀루엔 (40 ml)에 녹인 후 CaH₂ (0.59 g, 13.3 mmol) 및 카보닐디이미다졸 (carbonyldiimidazole) (2.35 g, 15.4 mmol)을 가하고 교반시켰다. 11시간 뒤 상기 용액을 여과한 후 여과 액을 감압 휘발하여 농축시키고 관 크로마토그래피(에틸아세테이트:헥산 = 1:1)로 정제하여 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (2.6 g)을 얻었다.

<161> m.p. = 144–145 °C

<162> ¹H-NMR (CDCl₃): 1.35, 1.46, 1.45, 1.63 (4s, 3H), 3.49 (dd, J = 9.3 Hz, 11.4 Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.84 (d, J = 4.2 Hz, 1H), 4.17 (dd, J = 2.4 Hz, 5.4 Hz, 1H), 4.21 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 4.32 (dd, J = 4.5 Hz, 1H), 4.74 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 4.86 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 5.35 (dd, J = 6.9 Hz, 11.1 Hz, 1H), 6.89 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.05 (dd, J = 0.6 Hz, 1. 5Hz, 1H), 7.35 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.42 (dd, J = 1.5 Hz, 1H), 8.12 (s, 1H)

<163> MS (FAB) m/z 497 (M⁺+ Na)

<164> 제조예 22: 2-O-벤조일-1,6:3,4-디-O-이소프로필리덴-5-O-p-메톡시벤질-myo-이노시톨의 제조

<165> 제조예 14에서 얻은 2-O-벤조일-1,6:3,4-디-O-이소프로필리덴-myo-이노시톨 (1 g, 2.74 mmol), Ag₂O (1.27 g, 5.49 mmol), p-메톡시벤질클로라이드 (744 μl, 5.49 mmol), 분자체 (molecular sieve) 4 Å (분말, 1 g) 및 테트라부틸암모늄아이오다이드(tetrabutylammonium

iodide) (101 mg, 274 μmol)를 CH_2Cl_2 (10 ml)에 녹이고 상온에서 30시간 동안 교반하였다.

이어서, 반응물을 관 크로마토그래피(에틸아세테이트:헥산 = 1:2)로 정제하고 결정화(에틸아세테이트 및 n-헥산)하여 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (837 mg)을 얻었다.

<166> m.p. = 150-152 °C

<167> $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 1.35, 1.44 (2s, 12H), 3.77 (dd, J = 9.5 Hz, 2.0 Hz, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.87 (t, J = 9.1 Hz, 1H), 4.15 (t, J = 9.3 Hz, 1H), 4.80 (s, 2H), 6.0 (t, J = 1.9 Hz, 1H), 6.87 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.35-7.57 (m, 5H), 8.0 (d, J = 8.3 Hz, 2H)

<168> MS (FAB) m/z = 507 ($\text{M}^+ + \text{Na}$), 485 ($\text{M}^+ + \text{H}$)

<169> 제조예 23: 1,6:3,4-디- O -이소프로필리デン-5- O -*p*-메톡시벤질-*myo*-이노시톨(화학식 8의 화합물)
의 제조

<170> 제조예 22에서 얻은 2- O -벤조일-1,6:3,4-디- O -이소프로필리덴-5- O -*p*-메톡시벤질-*myo*-이노시톨 (700 mg, 1.45 mmol)을 CH_3OH (15 ml)에 녹인 후 NaOCH_3 (66 $\mu\ell$, 25% in CH_3OH , 0.29 mmol)를 가하고 2시간 동안 가열 환류하였다. 이어서, 반응액의 온도를 상온으로 낮추고 하루 동안 방치하여 결정화한 다음 생성된 고체를 여과하고, CH_3OH 및 에틸아세테이트로 씻어주어 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (484 mg)을 얻었다.

<171> m.p. = 191-192 °C

<172> $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 1.48, 1.50 (2s, 12H), 2.22 (brs, 1H), 3.59 (dd, J = 9.4 Hz, 2.1 Hz, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.82 (t, J = 9.4 Hz, 1H), 4.12 (t, J = 9.3 Hz, 2H), 4.58 (broad d, J = 1.9 Hz, 1H), 4.80 (s, 2H), 6.89 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.37 (d, J = 8.6 Hz, 2H)

<173> MS (FAB) $m/z = 403$ ($M^+ + Na$)

<174> 제조예 24: 2-O-벤질-1,6:3,4-디-O-이소프로필리デン-5-O-p-메톡시벤질-myo-이노시톨의 제조

<175> 제조예 23에서 얻은 1,6:3,4-디-O-이소프로필리덴-5-O-p-메톡시벤질-myo-이노시톨 (280 mg, 0.736 mmol)을 *N,N*-디메틸포름아미드 (5 ml)에 녹인 후, 0 °C에서 NaH (70 mg, 미네랄 오일 중 55%, 1.47 mmol)를 가하고 반응액의 온도를 상온으로 올려 30분간 교반하였다. 여기에 벤질브로마이드 (256 mg, 1.47 mmol)를 가하고 상온에서 1시간 동안 교반하였다. 이어서, 포화된 $NaHCO_3$ 수용액 (50 ml)을 넣어 반응을 종결하고 에틸아세테이트 (300 ml)로 회석한 다음, 포화된 $NaHCO_3$ (50 ml) 및 $NaCl$ (50 ml) 수용액으로 세척한 후 유기층을 건조 (Na_2SO_4)시킨 후 농축하고 관 크로마토그래피(에틸아세테이트:헥산 = 1:2)로 정제하여 흰색 고체상의 상기 표제화합물 (320 mg)을 얻었다.

<176> m.p. = 180-181 °C

<177> 1H -NMR($CDCl_3$): δ 1.47, 1.48 (2s, 12H), 3.62 (dd, $J = 9.5$ Hz, 2.0 Hz, 2H), 3.80 (t, $J = 9.2$ Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 4.20 (t, $J = 9.3$ Hz, 2H), 4.37 (t, $J = 2.0$ Hz, 1H), 4.80, 4.85 (2s, 4H), 6.90 (dm, $J = 6.7$ Hz, 2H), 7.27-7.39 (m, 8H)

<178> MS (FAB) $m/z = 493$ ($M^+ + Na$)

<179> 제조예 25: 2-O-벤질-1,6:3,4-디-O-이소프로필리덴-myo-이노시톨(화학식 9의 화합물)의 제조

<180> 제조예 24에서 얻은 2-O-벤질-1,6:3,4-디-O-이소프로필리덴-5-O-p-메톡시벤질-myo-이노시톨 (283 mg, 0.60 mmol)을 CH_2Cl_2 에 녹인 후 상온에서 $Mn(OAc)_3$ (449mg, 1.8 mmol) 및 2,3-

디클로로-5,6-디시아노-1,4-벤조퀴논 (147 mg, 0.65 mmol)을 가하고 12시간 동안 교반하였다. 얻은 반응액에 포화된 NaHCO₃ 수용액 (30 ml)을 천천히 가하고, 에틸아세테이트 (50 ml)로 희석한 후 유기층을 중류수 (30 ml x 2회) 및 포화된 NaCl 수용액으로 씻어주었다. 이어서, 유기층은 건조 (Na₂SO₄) 후 농축하고 (에틸아세테이트:헥산 = 1:2 ~ 1:1)로 정제하여 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (176 mg)을 얻었다.

<181> m.p. = 190-191 °C

<182> ¹H-NMR(CDCl₃): δ 1.48, 1.49(2s, 12H), 2.44 (brs, 1H), 3.64 (dd, J = 9.1 Hz, 1.9 Hz, 2H), 4.02 (m, 1H), 4.13(t, J = 9.4 Hz, 2H), 4.40 (t, J = 2.0 Hz, 1H), 4.85 (s, 2H), 6.90 (dm, J = 6.7 Hz, 2H), 7.27-7.40 (m, 5H)

<183> MS (FAB) m/z = 373 (M⁺+ Na)

<184> 제조예 26:

2-O-(1-이미다졸릴카보닐옥시)-5-O-p-메톡시벤질-1,6:3,4-디-O-이소프로필리덴-myO-이노시톨의 제조

<185> 제조예 23에서 얻은 1,6:3,4-디-O-이소프로필리덴-5-O-p-메톡시벤질-myO-이노시톨 (150 mg, 0.39 mmol)을 틀루엔 (3 ml)에 녹이고, 상온에서 CaH₂ (41 mg, 0.9 mmol)을 가한 후 20시간 교반한 다음, 카보닐디이미다졸(carbonyldi imidazole) (170 mg, 0.98 mmol)을 가하고 36시간 동안 교반하였다. 반응물을 거르고 여과액을 농축한 후 관 크로마토그래피로 정제하여 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (184 mg)을 얻었다.

<186> m.p. = 159-162 °C

<187> $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 1.41, 1.49(2s, 12H, 2CMe_2), 3.80 (dd, $J = 9.5, 2.3$ Hz, 2H, H-1 & H-3), 3.83 (s, 3H, OCH_3), 3.90 (t, $J = 1$ Hz, 9.0Hz, 1H, H-5), 4.05 (t, $J = 9.3$ Hz, 2H, H-4 & H-6), 4.82 (s, 2H, PhCH_2), 5.92 (t, $J = 2.2$ Hz, 1H, H-2), 6.91 (dt, $J = 8.7, 2.9$ Hz, 2H, Ph), 7.13 (dd, $J = 1.54, 0.7$ Hz, 1H, imidazole), 7.38 (dt, $J = 8.65, 2.7$ Hz, 2H, Ph) 7.44 (t, $J = 1.4$ Hz, 1H, imidazole), 8.17 (s, 1H, imidazole)

<188> MS(FAB) $m/z = 475(\text{M}^+ + 1)$

<189> 제조예 27: 1-O-벤조일-4-O-벤질-2,3:5,6-디-O-이소프로필리렌-*scy*/1O-이노시톨의 제조

<190> 제조예 20에서 얻은 1-O-벤조일-2,3:5,6-디-O-이소프로필리렌-*scy*/1O-이노시톨 (200 mg, 0.549 mmol), 산화은(silver(I) oxide) (381 mg, 1.64 mmol) 및 테트라부틸암모늄 아이오다이드 (40 mg, 0.109 mmol)를 CH_2Cl_2 에 녹인 후 실온에서 벤질브로마이드 (0.19 ml, 1.64 mmol)를 적가하였다. 2시간 후 반응액을 셀라이트를 통해 여과한 후 CH_2Cl_2 으로 여러 번 세척하였다. 이어서, 여과액을 포화된 NaHCO_3 및 NaCl 수용액으로 세척한 후 유기층을 MgSO_4 로 건조시키고 나서 감압 휘발하고 관 크로마토그래피 (에틸아세테이트:헥산 = 1:9)로 정제하여 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (200 mg)을 얻었다.

<191> m.p. = 175-176 °C

<192> $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 1.44, 1.46 (s, 6H), 3.81-3.9 (m, 5H), 4.86 (s, 2H), 5.58 (app. t, $J = 9.3$ Hz, 1H), 7.25-7.56 (m, 7H), 8.06 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H)

<193> MS (FAB) m/z 478 ($\text{M}^+ + \text{Na}$)

<194> 제조예 28: 1-O-벤질-2,3:5,6-디-O-이소프로필리덴-scyllo-이노시톨(화학식 12의 화합물)의 제조

<195> 제조예 27에서 얻은 1-O-벤조일-4-O-벤질-2,3:5,6-디-O-이소프로필리덴-scyllo-이노시톨(200 mg, 0.44 mmol)을 CH₃OH (15 ml)에 녹인 후 NaOCH₃ (0.04 ml, 0.17 mmol, 25% w/v in CH₃OH)을 적가하고 3시간 동안 환류시켰다. 얻은 용액을 실온으로 냉각시키고 실리카겔을 통해 여과시킨 다음 여과액을 농축하고 5% 에틸아세테이트로 세척하여 메틸벤조에이트를 제거함으로써 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (150 mg)을 얻었다.

<196> m.p. = 215-216 °C

<197> ¹H-NMR (CDCl₃): δ 1.46 (s, 12H), 2.41 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 3.63 (t, J = 9.1 Hz, 4H), 3.71 (t, J = 9 Hz, 4H), 3.87 (t, J = 8.9 Hz, 1H), 4.1 (app. t, J = 9.1 Hz, 1H), 4.83 (s, 2H), 7.26-7.39 (m, 5H)

<198> MS (FAB) m/z 373 (M⁺+ Na)

<199> 제조예 29: 1-O-p-메톡시벤질-2,3:5,6-디-O-이소프로필리덴-scyllo-이노시톨(화학식 11의 화합물)의 제조

<200> 제조예 20에서 얻은 1-O-벤조일-2,3:5,6-디-O-이소프로필리덴-scyllo-이노시톨 (300 mg, 0.85 mmol)을 N,N-디메틸포름아미드 (10 ml)에 녹인 후 0 °C에서 NaH (57.8 mg, 1.44 mmol)를 넣은 다음 p-메톡시벤질클로라이드(p-methoxybenzyl chloride) (0.12 ml, 0.93 mmol)를 천천히 적가하였다. 여기에 테트라부틸암모늄 아이오다이드를 촉매량 만큼 적가한 후 반응액의 온도를 천천히 실온으로 올리고 교반시켰다. 4시간 후 반응액을 에틸아세테이트로 추출하고 포화

된 NaHCO_3 및 NaCl 수용액으로 세척하였다. 이어서, 유기층을 MgSO_4 로 건조시키고 감압 휘발한 후 CH_3OH (15 ml) 및 NaOCH_3 (0.05 ml, 0.057 mmol, 25% w/v in CH_3OH)를 넣고 3시간 동안 환류시켰다. 3시간 30분 후 반응액을 실온으로 냉각시키고 실리카겔을 통해 여과한 후 여과액을 감압 휘발하고 관 크로마토그래피 (에틸아세테이트:헥산 = 1:3)로 정제하여 상기 표제 화합물 (210 mg)을 얻었다.

<201> m.p. = 198-200 °C

<202> $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 1.47 (s, 12H), 2.41(brs, 1H), 3.59-3.63 (m, 5H), 3.65 (s, 3H), 3.80 (app. t, J = 9.1 Hz, 1H), 4.76 (s, 2H), 6.87 (d, J = 9 Hz, 2H), 7.33 (d, J = 9.1 Hz, 2H)

<203> MS (FAB) m/z 403 ($\text{M}^+ + \text{Na}$)

<204> 제조예 30: 1- O -벤질-4-(1- O]미다졸릴카보닐옥시)-2,3:5,6-디- O -이소프로필리텐-*scyli/o*-이노시톨의 제조

<205> 제조예 28에서 얻은 1- O -벤질-2,3:5,6-디- O -이소프로필리텐-*scyli/o*-이노시톨(70 mg, 0.19 mmol)을 툴루엔 (6 ml)에 녹이고, 상온에서 CaH_2 (21 mg, 0.49 mmol)을 가한 후 20분간 교반한 다음, 카보닐디이미다졸 (81 mg, 0.49 mmol)을 가하고 18시간 동안 교반하였다. 반응물을 거르고 여과액을 농축한 후 관 크로마토그래피(에틸아세테이트:헥산 = 1:1)로 정제하여 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (87 mg)을 얻었다.

<206> m.p. = 214-216 °C

<207> $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 1.45, 1.47 (2s, 12H, 2CMe_2), 3.80-3.87 (m, 5H), 4.85 (s, 2H, PhCH_2), 5.45 (app.t, J = 1.9 Hz, 1H, H-1), 7.07 (s, 1H), 7.29-7.42 (m, 6H), 8.16 (s, 1H)

<208> MS(FAB) m/z = 445(M⁺+ 1), 467(M⁺+ 1)

<209> 제조예 31: 4-O-알릴-2,3:5,6-디-O-이소프로필리텐-scyllo-o-이노시톨의 제조

<210> 제조예 20에서 얻은 1-O-벤조일-2,3:5,6-디-O-이소프로필리텐-scyllo-o-이노시톨 (500 mg, 1.37 mmol)을 N,N-디메틸포름아미드 (10 ml)에 녹인 후 0 °C에서 NaH (9.8 mg, 2.47 mmol)을 넣었다. 10분 후 알릴브로마이드(allyl bromide) (0.18 ml, 2.05 mmol)를 넣고 실온에서 20시간 동안 교반시켰다. 이어서, 상기 반응액을 에틸아세테이트로 추출하고 포화된 NaCl 수용액으로 세척한 후 MgSO₄로 건조시킨 다음 감압 휘발하고 관 크로마토그래피 (에틸아세테이트:헥산 = 3:7)로 정제하여 4-O-알릴-1-O-벤조일-2,3:5,6-디-O-이소프로필리텐-scyllo-o-이노시톨 (450 mg)을 얻었다. 앞에서 얻은 4-O-알릴-1-O-벤조일-2,3:5,6-디-O-이소프로필리텐-scyllo-o-이노시톨 (400 mg, 0.989 mmol)을 CH₃OH (12 ml)에 녹인 후 NaOCH₃ (0.09 ml, 0.395 mmol, 25% w/v in CH₃OH)을 적가하고 3시간 동안 환류시켰다. 반응액을 실온으로 냉각시키고 실리카겔을 통해 여과한 후 여과액을 농축한 다음 5% 에틸아세테이트로 세척하여 메틸벤조에이트(methyl benzoate)를 제거함으로써 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (290 mg)을 얻었다.

211> m.p. = 200-202 °C

212> ¹H-NMR (CDCl₃): δ 1.46 (s, 12H), 2.46 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 3.57-3.68 (m, 4H), 3.83 (t, J = 8.1 Hz, 1H), 4.05 (t, J = 6.9 Hz, 1H), 4.28 (d, J = 5.7 Hz, 2H), 5.21 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 5.33 (dd, J = 18.1 Hz, 1.5 Hz 1H), 5.95 (m, 1H)

213> MS (FAB) m/z 301 (M⁺+ 1), 323 (M⁺+ Na)

<214> 제조예 32: 4-O-(2-N,N-디벤질아미노에틸)-2,3:5,6-디-O-이소프로필리텐-scy//o-이노시톨의 제조

<215> 제조예 31에서 얻은 4-O-알릴-2,3:5,6-디-O-이소프로필리텐-scy//o-이노시톨 (250 mg, 0.832 mmol) 및 NaHCO₃ (139 mg, 1.66 mmol)를 CH₂Cl₂/CH₃OH의 혼합용액(6:1, 50 ml)에 녹이고 -78 °C에서 반응용액의 색이 파란색이 될 때까지 O₃를 적가하였다. 이어서, 다시 용액의 파란색이 사라질 때까지 N₂를 적가한 후 트리페닐포스핀 (327 mg, 12.49 mmol)을 적가하였다. 하이드로퍼옥시드의 환원반응이 종결되면 관 크로마토그래프로 정제하여 4-O-에탄알-2,3:5,6-디-O-이소프로필리텐-scy//o-이노시톨 (235 mg)을 얻었다. 앞에서 얻은 4-O-에탄알-2,3:5,6-디-O-이소프로필리텐-scy//o-이노시톨 (150 mg, 0.496 mmol)을 테트라하이드로퓨란 (15 ml)에 녹인 후 디벤질아민(dibenzylamine) (0.04 ml, 0.744 mmol), 아세트산 (0.04 ml, 0.744 mmol) 및 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드(sodium triacetoxyborohydride) (265 mg, 1.24 mmol)를 넣은 다음 -10 °C에서 3시간 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면 CH₂Cl₂ (60 ml)로 추출하고 1 N NaOH (30 ml) 용액으로 세척한 후 H₂O로 5회 세척하였다. 이어서, 유기층을 MgSO₄로 건조시킨 후 감압 휘발하여 농축시키고 관 크로마토그래피 (에틸아세테이트:헥산 = 7:3)로 정제하여 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (180 mg)을 얻었다.

216> m.p. = 144–145 °C

217> ¹H-NMR (CDCl₃): δ 1.44 (s, 12H), 2.70 (brs, 1H), 2.74 (t, J = 6 Hz, 2H), 3.54–3.59 (m, 4H), 3.64 (s, 4H), 3.74 (t, J = 6.2 Hz, 1H), 3.87 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 4.0 (t, J = 6.3 Hz, 1H), 7.19–7.39 (m, 10H)

218> MS (FAB) m/z 484 (M⁺+ 1), 506 (M⁺+ Na)

<219> 제조예 33: 4-O-(2-N,N-디벤질아미노에틸)-1-O-(메틸옥시카보닐메틸)-2,3:5,6-디-

<220> O-이소프로필리덴-scy//O-이노시톨 (화학식 13의 화합물)의 제조

<221> 제조예 32에서 얻은

4-O-(2-N,N-디벤질아미노에틸)-2,3:5,6-디-O-이소프로필리덴-scy//O-이노시톨 (125 mg, 0.258 mmol)을 N,N-디메틸포름아미드 (10 ml)에 녹인 후 0 °C에서 NaH (20 mg, 0.51 mmol)를 적가하였다. 반응액을 0 °C에서 20분 동안 교반시킨 후 에틸브로모아세테이트(ethyl bromoacetate) (0.05 ml, 0.51 mmol)를 적가하고 상온에서 10시간 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면 에틸아세테이트로 추출하고 포화된 NaCl 수용액 및 H₂O로 세척한 후 MgSO₄로 건조시킨 다음 감압 휘발하고 관 크로마토그래피 (에틸아세테이트:헥산 = 3:7)로 정제하여 상기 표제 화합물 (110 mg)을 얻었다.

<222> m.p . = 130-132 °C

<223> ¹H-NMR (CDCl₃): δ 1.41 (s, 12H), 2.72 (t, J = 6 Hz, 2H), 3.58 (t, J = 6.3 Hz, 2H), 3.63-3.89 (m, 13H), 4.36 (s, 2H), 7.12-7.40 (m, 10H)

<224> MS (FAB) m/z 556 (M⁺+ 1), 579 (M⁺+ Na)

<225> 제조예 34: 4-O-(2-아미노에틸)-1-O-(메틸옥시카보닐메틸)-2,3:5,6-디-O-이소프로필리덴-scy//O-이노시톨의 제조

<226> 제조예 33에서 얻은 4-O-(2-N,N-디벤질아미노에틸)-1-O-(메틸옥시카보닐메틸)-2,3:5,6-디-O-이소프로필리덴-scy//O-이노시톨(20 mg, 0.035 mmol)을 CH₂Cl₂-메탄올 혼합용매(1:2, 12

m1)에 녹이고 팔라듐 하이드록사이드(palladium hydroxide) (20% on carbon, 9.7 mg)을 가한 후 40 psi의 수소기체 하에서 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 셀라이트를 통해 거르고, 걸려진 용액을 감압 휘발하여 농축한 뒤 메탄올 용매 하에서 재결정하여 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (14 mg)을 얻었다.

<227> m.p.= 193-195 °C

<228> $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): δ 1.41 (s, 12H), 3.10 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H), 3.27 (dd, $J = 6.5, 1.8$ Hz, 2H), 3.69-3.90 (m, 11H), 4.28 (s, 2H)

<229> 제조예 35: 4-O-(2-N,N-디벤질아미노에틸)-1-O-(카르복시메틸)-2,3:5,6-디-O-이소프로필리텐-*scylio*-이노시톨의 제조

<230> 제조예 33에서 얻은 4-O-(2-N,N-디벤질아미노에틸)-1-O-(메틸옥시카보닐메틸)-2,3:5,6-디-O-이소프로필리텐-*scylio*-이노시톨(20 mg, 0.035 mmol)을 메탄올(3 ml)에 녹이고 NaOH 펠렛(4.3 mg, 0.107 mmol)을 가하여 상온에서 10시간 동안 교반하였다. 반응물을 감압 휘발하여 농축한 후, 중류수(2ml)를 가하고 에틸에테르(1 ml씩 2회)로 수충을 씻어주었다. 수충에 5% aq. AcOH를 가하여 pH가 7이 되도록 한 후 CH_2Cl_2 (4 x 4 ml)로 추출한 다음 유기층을 모아 건조 (Na_2SO_4)시키고 감압 휘발하여 흰색 고체상의 상기 표제 화합물 (13 mg)을 얻었다.

<231> $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 1.41 & 1.44 (2s, 12H), 2.77 (t, $J = 5.8$ Hz, 2H), 3.35-3.91 (m, 12H), 4.37 (s, 2H), 7.20-7.40(m, 10H)

<232> 실시예 1: 화학식 2($x=0-\text{CO}-0$, $n=5$ 인 경우)의 화합물의 제조

<233> 1-1) *myo*-이노시톨 다이머 화합물의 제조

<234> 제조예 21에서 얻은 화합물(1.62 g, 3.4 mmol)을 툴루엔 (21 ml)에 녹인 후 제조예 5에

서 얻은 화합물(1.8 g, 5 mmol) 및 1,8-디아조바이사이클로[5.4.0]운데-7-센
(1,8-diazobicyclo[5.4.0]undec-7-ene) (0.05 ml, 0.34 mmol)을 가하고 상온에서 18시간 동안
교반시켰다. 반응용액을 CH_2Cl_2 로 추출하고 MgSO_4 로 건조시킨 후 감압 휘발하여 농축시키고
헥산/에틸아세테이트 (5:1)로 재결정하여 흰색 고체상의 커플링된 다이머 형태의 화합물 (2.23
g)을 얻었다.

<235> m.p. = 225-226 °C

<236> $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1.10-1.72 (m, 24H), 3.35&3.36 (dd, J = 9.3 Hz, 11.0&9.5 Hz, 11.1 Hz,
2H), 3.49 (t, J = 9.3&10.8 Hz, 2H), 3.73 (dd & t, J = 2.6 Hz, 5.8&1.4 Hz, 2H),
4.00-4.15 (m, 6H), 4.12 (dd, J = 5.9 Hz, 9.1&2.6 Hz, 5.9 Hz, 4H), 4.69 (t, J = 2.5&4.4
Hz, 4H), 4.82 (s, 8H), 4.95&4.96 (dd, J = 4.1 Hz, 10.5&4.1 Hz, 10.5 Hz, 2H), 5.04&5.05
(dd, J = 6.9 Hz, 11.1&7.0 Hz, 11.0 Hz, 2H), 6.89 (d, J = 8.7 Hz, 4H), 7.24-7.42 (m,
14H)

<237> IR (KBr): 1748 cm^{-1} (CO)

<238> MS (FAB) m/z 779.82 ($\text{M}^+ + \text{Na}$)

239> 1-2) *myo*-이노시톨 다이머의 아세토나이드 보호기 제거

240> 실시예 1-1)에서 얻은 *myo*-이노시톨 다이머 화합물 (2.21 g)을 CH_2Cl_2 (25 ml)에 녹인 후
 CH_3OH (24.3 ml) 및 *p*-톨루엔설폰산 (286.1 mg, 1.46 mmol)을 가하고 상온에서 14시간 동안

교반시켰다. 그런 다음, 얻은 용액을 여과하여 흰색 고체상의 아세토나이드 보호기가 제거된 -이노시를 다이머 화합물 (1.45 g)을 얻었다.

<241> m.p. = 169 °C

<242> $^1\text{H-NMR}$ (DMSO): 3.11–3.24 (m, 4H), 3.35–3.48 (m, 5H), 3.49 (dd, J = 9.6 Hz, 21.2 Hz, 4H), 3.74 (s, 3H), 3.90–3.97 (m, 3H), 4.25–4.33 (m, 2H), 4.53 (dd, J = 1.8 Hz, 24.9 Hz, 4H), 4.70–4.74 (m, 12H), 4.77–4.81 (m, 2H), 6.89 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.21–7.35 (m, 5H), 7.43 (d, J = 7.1 Hz, 2H)

<243> MS (FAB) m/z 619 ($\text{M}^+ + \text{Na}$)

<244> 1-3) 아실화 반응을 통한 아미노산의 도입

<245> 실시예 1-2)에서 얻은 화합물 (200 mg, 0.34 mmol), 제조예 8에서 얻은 화합물 (1.55 g, 6.7 mmol) 및 N,N -디메틸아미노페리딘 (62.3 mg, 0.51 mmol)을 N,N -디메틸포름아마이드 (4 ml)에 녹인 후 1-[3-(디메틸아미노)프로필]-에틸카보디이미드염산 (1-[3-(dimethylamino)propyl]-ethylcarbodiimide hydrochloride) (1.3 g, 6.7 mmol)을 가하고 상온에서 1일 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면 CH_2Cl_2 로 추출한 후 포화된 NaHCO_3 수용액으로 여러 번 H_2O 로 세척하였다. 이어서, 유기층을 분리하고 Na_2SO_4 로 건조시킨 후 감압 회발하여 농축시켜 골격구조에 8개의 아미노산이 도입된 갈색 포상 고체상의 목적 화합물 (776.6 mg)을 얻었다.

<246> $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1.13–1.32 (m, 16H), 1.36 (s, 72H), 1.45–1.57 (m, 32H), 2.06–2.15 (m, 16H), 2.95–3.02 (m, 16H), 3.7 (s, 3H), 3.85–3.91 (m, 1H), 4.22 (dd,

$J = 1.9$ Hz, 9.3 Hz, 1H), 4.48 (d, $J = 11.8$ Hz, 2H), 4.55 (d, $J = 6.6$ Hz, 2H), 4.60–5.68 (m, 10H), 6.76 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.05 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.10–7.26 (m, 5H)

<247> MS (FAB) m/z 2324.6 ($M^{+} + Na$)

<248> 1-4) *p*-메톡시벤질 보호기의 제거

<249> 실시예 1-3)에서 얻은 화합물 (705.1 mg, 0.31 mmol)을 CH_2Cl_2/H_2O (18:1) (5 ml)에 녹인 후 0 °C로 냉각시키고 2,3-디클로로-5,6-디시아노-1,4-벤조퀴논 (2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone) (139.0 mg, 0.61 mmol)을 첨가한 다음 상온에서 교반시켰다. 2일 후 포화된 $NaHCO_3$ 수용액을 가하여 반응을 중단시키고 H_2O 로 세척한 후 유기 층을 Na_2SO_4 로 건조시키고 감압 휘발하여 농축시켜 *p*-메톡시벤질 보호기가 제거된 갈색 포상 고체상의 목적 화합물 (373.9 mg)을 얻었다.

<250> 1H -NMR ($CDCl_3$): 1.17–1.26 (m, 16H), 1.37 (s, 72H), 1.41–1.53 (m, 32H), 2.94–3.05 (m, 16H), 2.07–2.41 (m, 16H), 3.86–3.92 (m, 2H), 4.31–5.56 (m, 24H), 7.11–7.27 (m, 5H)

<251> MS (FAB) m/z 2204.8 ($M^{+} + Na$)

<252> 1-5) 형광물질의 도입

<253> 실시예 1-4)에서 얻은 화합물 (284.1 mg, 0.13 mmol) 및 *N,N*-디메틸아미노페리딘 (47.6 mg, 0.38 mmol)을 아세토니트릴 (4 ml)에 녹인 후 5-디메틸아미노-1-나프탈렌설포닐클로라이드(5-dimethylamino-1-naphthalenesulfonyl chloride) (70.2 mg, 0.26 mmol)를 가하고 상온에서 교반시켰다. 이를 후 포화된 NH_4Cl 수용

액 (8.3 ml)을 가하여 중화시킨 다음 에틸아세테이트로 추출하고 포화된 NaCl 수용액으로 세척하였다. 이어서, 유기층을 Na_2SO_4 로 건조시킨 후 감압 휘발하여 농축시키고 관 크로마토그래피(에틸아세테이트:헥산 = 1:1)로 정제하여 형광물질이 도입된 노란색 포상 고체상의 목적 화합물 (261.7 mg)을 얻었다.

<254> $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1.21 (s, 16H), 1.38 (s, 72H), 1.53–1.59 (m, 32H), 1.99–2.33 (m, 16H), 2.83 (s, 6H), 2.94–3.04 (m, 16H), 3.89 (t, $J = 9.8$ Hz, 1H), 4.56 (dd, $J = 12.0$ Hz, 18.6 Hz, 2H), 4.69–5.54 (m, 11H), 7.11–7.29 (m, 6H), 7.50 (dd, $J = 8.4$ Hz, 16.5 Hz, 2H), 8.03 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 8.18 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 8.61 (brs, 1H)

<255> MS (FAB) m/z 2438.1 ($\text{M}^+ + \text{Na}$)

<256> 1-6) 아미노산 말단의 t-Boc 보호기의 제거

<257> 실시예 1-5)에서 얻은 화합물 (202.3 mg, 0.08 mmol)을, HCl 가스로 포화시킨 에틸아세테이트 (8 ml)에 녹인 후 상온에서 45분 동안 교반하고 감압 휘발하여 아미노산 말단의 t-Boc 보호기가 제거된 노란색 포상 고체상의 목적 화합물 (180.4 mg)을 얻었다.

<258> $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): 1.37 (m, 16H), 1.69 (m, 32H), 2.23 (m, 16H), 2.94 (m, 16H), 3.28–3.30 (m, 1H), 3.44 (s, 6H), 4.71 (m, 2H), 4.95–5.62 (m, 11H), 7.21–7.30 (m, 5H), 7.87–7.98 (m, 2H), 8.14 (brs, 1H), 8.53 (dd, $J = 8.4$ Hz, 15.0 Hz, 2H), 8.95 (t, $J = 3.9$ Hz, 1H)

<259> MS (MALDI-TOF) m/z 1636.2 ($\text{M}^+ + \text{Na}$)

<260> 1-7) 구아니디늄기의 도입

<261> 실시예 1-6)에서 얻은 화합물 (141.6 mg, 0.07 mmol)을 *N,N*-디메틸포름아미드 (2.8 ml)에 녹인 후 트리에틸아민 (0.4 ml, 3 mmol) 및 제조예 11에서 얻은 *N,N*-디-Boc-*N'*-트리플루오로메탄설휠구아니딘 (1.2 g, 3 mmol)을 가하고 상온에서 교반시켰다. 2일 후 과량의 에틸아세테이트를 넣고 2 N NaHSO₄, 포화된 NaHCO₃ 및 NaCl 수용액으로 세척한 후 유기층을 Na₂SO₄로 건조시킨 다음 감압 휘발하여 농축시키고 관 크로마토그래피(에틸아세테이트:헥산 = 1:2)로 정제하여 구아니디늄기가 8개 도입된 노란색 포상 고체상의 목적 화합물 (93.1 mg)을 얻었다.

<262> ¹H-NMR (CDCl₃): 1.13-1.65 (m, 19H), 1.60-2.31 (m, 16H), 2.82 (s, 6H), 3.24-3.36 (m, 16H), 3.88 (t, *J* = 9.9 Hz, 1H), 4.56-5.51 (m, 13H), 7.11-7.29 (m, 6H), 7.51 (dd, *J* = 8.4 Hz, 16.2 Hz, 2H), 7.99 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 8.17 (dd, *J* = 0.9 Hz, 7.5 Hz, 1H), 8.22-8.28 (m, 8H), 11.46 (s, 8H)

<263> 1-8) 구아니디늄기 말단의 t-Boc 보호기의 제거

<264> 실시예 1-7)에서 얻은 화합물 (38 mg, 0.01 mmol)을 트리플루오로아세트산/CH₂Cl₂ (1:1) (2 ml)에 녹인 후 상온에서 5시간 동안 교반시켰다. 그런 다음 감압 휘발하여 농축한 후 H₂O 및 에틸아세테이트를 넣고 수층을 모아 감압 휘발하여 구아니디늄기 말단의 t-Boc 보호기가 제거된 노란색 포상 고체상의 목적 화합물 (27 mg)을 얻었다.

<265> ¹H-NMR (CD₃OD): 1.13-1.35 (m, 16H), 1.42-1.61 (m, 32H), 2.13-2.43 (m, 16H), 2.88 (s, 6H), 3.02-3.16 (m, 16H), 4.01 (t, *J* = 9.6Hz, 1H), 4.64 (dd, *J* = 11.9 Hz, 18.7 Hz, 2H), 5.01-5.61 (m, 11H), 7.16-7.28 (m, 6H), 7.52-7.66 (m, 2H), 8.00 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 8.27 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 8.64 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H)

<266> MS (MALDI-TOF) m/z 1973.1 ($M^+ + Na$)

<267> 1-9) 벤질(Bn) 보호기의 제거

<268> 실시예 1-8)에서 얻은 화합물 (10 mg, 3.5 μmol)을 메탄올 (1 ml)에 녹이고 수팔라듐하이드록사이드(palladium hydroxide) (20% on carbon, 20 mg)를 가한 후, 1 기압 수소기체 하에서 4시간 동안 교반하였다. 반응물을 셀라이트(celite)를 통해 거르고, 걸러진 용액을 감압 휘발하여 벤질 보호기가 제거된, 노란색 포상 고체상의 목적 화합물 (7 mg)을 얻었다.

<269> $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): 1.1-1.6 (m, 48H), 2.1-2.5 (m, 16H), 2.90 (s, 6H), 3.0-3.26 (m, 16H), 3.97(t, $J = 9.9 \text{ Hz}$, 1H), 5.0-5.7 (m, 11H), 7.29 (d, $J = 7.7 \text{ Hz}$, 1H), 7.57 (t, $J = 8.1 \text{ Hz}$, 1H), 7.67 (t, $J = 8.1 \text{ Hz}$, 1H), 8.00 (d, $J = 8.5 \text{ Hz}$, 1H), 8.30 (d, $J = 7.5 \text{ Hz}$, 1H), 8.64 (d, $J = 8.7 \text{ Hz}$, 1H)

<270> 실시예 2: 화학식 2($x=0-\text{CO}-0$, $n=3$ 및 $n=7$ 인 경우)의 화합물의 제조

<271> 상기 실시예 1에서, 1-3) 단계에서 6-Boc-아미노헥산산을 사용하는 것 대신 제조예 7 및 제조예 9에서 얻은 4-Boc-아미노부탄산 및 8-Boc-아미노옥탄산을 사용하여 화학식 2의 화합물 중 $n=3$ 및 $n=7$ 인 화합물을 각각 제조하였다.

<272> 실시예 3: 화학식 3($x=0-\text{CO}-0$ 인 경우)의 화합물의 제조

<273> 제조예 25에서 얻은 화합물 (42 mg, 0.12 mmol)을 태트라히드로퓨란 (5 ml)에 녹인 후 0 °C에서 NaH (6 mg, 0.25 mmol)을 가하고, 상온으로 온도를 올려 25분간 교반하였다. 반응물

을 다시 0 °C로 온도를 낮춘 후, 제조예 26에서 얻은 화합물 (48 mg, 0.10 mmol)을 가하고 상온에서 2시간 동안 교반하였다. 이어서, 에틸아세테이트 (30 ml)로 반응물을 회석한 뒤 NaHCO₃ 포화 수용액 (30 ml)과 식염수(brine)로 씻어주고, 유기층을 건조(Na₂SO₄)시킨 후 농축하고 판크로마토그래피로 정제하고 재결정하여 커플링된 다이머 형태의 화합물 (29 mg)을 얻었다.

<274> m.p. = 168–170 °C

<275> ¹H-NMR(CDCl₃): δ 1.45, 1.46 (2s, 24H, 4CMe₂), 3.68 (app dt, J = 9.5, 2.1 Hz, 4H, H-1, H-1', H-3, H3'), 3.82 (s, 3H, OCH₃), 3.82 (t, J = 9.1, 1H, H-5'), 4.10 (t, J = 9.3 Hz, 2H, H-4' & H-6'), 4.23 (t, J = 9.6 Hz, 2H, H-4 & H-6), 4.39 (t, J = 1.8 Hz, 1H), 4.79, 4.85 (2s, 4H, 2PhCH₂), 5.17 (t, J = 9.6 Hz, H-5), 5.58 (t, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.89 (dd, J = 6.7, 1.9 Hz, 2H, Ph), 7.28–7.40 (m, 8H, Ph)

<276> MS(FAB) m/z = 779(M⁺⁺ Na)

<277> 상기 커플링된 다이머 형태의 화합물에, 실시예 1과 동일한 방법으로 아실화 반응을 수행하여 아미노산을 도입한 후 아미노산이 도입된 화합물의 아미노산 N-말단에 구아니디늄기를 도입함으로써 화학식 3의 화합물을 제조하였다.

<278> 실시예 4: 화학식 4(x= 0-CO-O인 경우)의 화합물의 제조

<279> 제조예 29에서 얻은 화합물 (43 mg, 0.11 mmol)을 테트라하이드로퓨란 (2 ml)에 녹인 후 0 °C에서 NaH (1.2 mg, 0.05 mmol)를 가한 다음, 상온으로 온도를 올려 25분간 교반하였다. 0 °C에서 상기 반응물을, 제조예 30에서 얻은 화합물 (50 mg, 0.11 mmol)을 녹인 테트라하이드로퓨

란 (3 ml) 용액에 가한 후 0 ~ 5 °C에서 1시간 30분 동안 교반하고 CH₂Cl₂ (25ml)로 반응물을 회석한 뒤 NH₄CO₃ 포화 수용액 (30 ml)으로 씻어준 다음, 유기층을 건조 (MgSO₄) 후 농축하고 관 크로마토그래피(에틸아세테이트:헥산 = 1 : 3)로 정제하여 커플링된 다이머 형태의 화합물 (41 mg)을 얻었다.

<280> m.p. = 284–286 °C

<281> ¹H-NMR(CDCl₃): δ 1.43, 1.47 (2s, 24H, 4CMe₂), 3.66–3.88 (m, 13H), 4.47 (s, 2H), 4.83 (s, 2H), 5.12 (t, J = 9.3 Hz, 2H, H-6, H-6'), 6.88 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.27–7.42 (m, 7H)

<282> MS(FAB) m/z = 757(M⁺+ 1), 780(M⁺+ Na)

<283> 상기 커플링된 다이머 형태의 화합물에, 실시예 1과 동일한 방법으로 아실화 반응을 수행하여 아미노산을 도입한 후 아미노산이 도입된 화합물의 아미노산 N-말단에 구아니디늄기를 도입함으로써 화학식 4(x= O-CO-O인 경우)의 화합물을 제조하였다.

<284> 실시예 5: 화학식 4(x= O-CH₂-CO-NH-(CH₂)₂-O 인 경우)의 화합물의 제조

<285> 제조예 34에서 얻은 화합물(8.3 mg, 0.022 mmol)과 제조예 35에서 얻은 화합물(12 mg, 0.022 mmol)을 N,N-디메틸포름아마이드(2.5 ml)에 녹이고, 상온에서 트리에틸아민(3 μl, 0.035 mmol), 1-하이드록시벤조트리아졸 하이드레이트(1-hydroxybenzotriazole hydrate, HOBT) (3.2 mg, 0.024 mmol) 및 1-[3-(디메틸아미노)프로필]-에틸카보디이미드염산 (1-[3-(dimethylamino)propyl]- ethylcarbodiimide hydrochloride) (4.6 mg, 0.024 mmol)을 차례로 가하고 12시간 동안 교반하였다. 반응물을 에틸아세테이트 (10 ml)로 회석한 후 NH₄Cl

수용액 (5 ml), 포화된 NaHCO₃ 수용액 (5 ml x 2), 중류수 (5 ml x 3)로 씻어준 다음 유기층을 건조(Na₂SO₄)한 후 감압 회발하여 농축하고 관 크로마토그래피(에틸아세테이트:n-헥산 = 1:1)로 정제하여 오일상의 커플링된 다이머 화합물 (14 mg)을 얻었다.

<286> ¹H-NMR(CDCl₃): δ 1.40, 1.43 (2s, 12H each, 4CMe₂), 2.72(t, J = 6.1 Hz, 2H), 3.35-3.88

(m, 25H), 4.23 (s, 2H), 4.36 (s, 2H), 7.02 (t, J = 6Hz, 1H), 7.19-7.39 (m, 10H)

<287> 상기 커플링된 다이머 형태의 화합물에, 실시예 1과 유사한 방법으로 아실화 반응을 수행하여 아미노산을 도입한 후 아미노산이 도입된 화합물의 아미노산 N-말단에 구아니디늄기를 도입함으로써 화학식 4 (x= O-CH₂-CO-NH-(CH₂)₂-O인 경우)의 화합물을 제조하였다.

<288> 시험예 1: 세포내 전달 효율 측정실험

<289> 상기 제조된 화합물들에 형광물질인 댄실(dansyl)기를 부착한 후 기존의 세포막 투과성이 뛰어나다고 알려진 아르기닌 9량체(dansyl-Arg₉, d-Arg₉)와의 세포 내 및 핵막 내 투과성을 다음과 같이 비교 실험하였다.

<290> 먼저 C12 웰 플레이트(well plate)에 커버 글라스를 넣고 그 위에서 COS 7 세포(monkey kidney epithelial cell)를 배양하였다. 배지는 10% FBS가 포함된 DMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium)으로 하고 24시간 동안 안정화시킨 후 세포의 기아(starvation)를 위해 무혈 청 배지(serum-free medium)에서 다시 24시간 동안 배양하였다. 이어서, 세포를 d-Arg₉ 또는 실시예 1 및 2에서 얻은 본 발명에 따른 이노시톨 유도체로 5분 동안 처리(~7 μM)한 후 커버 글라스를 꺼내어 PBS로 세척하고 슬라이드에 마운팅(mounting)시킨 후 공초점 현미경(confocal microscope)으로 모임면 단면을 관찰하였다. 이 때, 형광 물질을 여기시키기 위해 Ar 레이저(

파장 455 nm)를 사용하고 배율은 대물 40x 대안 10x 으로, 총 400배 확대 후 관찰하고 그 결과를 도 1에 나타내었다.

<291> 도 1의 (1)은 d-Arg₉를 COS 7 세포가 있는 슬라이드에 첨가했을 경우 나타나는 형광 이미지이고; (2)는 구아니디늄기가 없는 중간체 화합물(실시예 1의 단계 1-6)에서 얻은 화합물을 상기 슬라이드에 첨가했을 경우의 형광 이미지로서 구아니디늄기의 역할을 확인하기 위한 것이며; (3), (4) 및 (5)는 구아니디늄기를 함유한 아미노산의 측쇄 길이가 각각 n=3, 5 및 7인 본 발명의 화학식 2의 화합물을 세포에 첨가하였을 경우 나타나는 형광 이미지이다. 여기서, 녹색부분은 형광을 나타내는 것이고, 형광이 많이 보일수록 세포 내에 화합물들이 많이 존재함을 나타낸다.

<292> 도 1에 나타난 바와 같이, d-Arg₉(이미지 (1))보다 본 발명의 화합물(이미지 (3) 내지 (5))의 세포내 투과성이 더 우수하고, 구아니디늄기를 갖지 않는 중간체 화합물(이미지 (2))은 전혀 세포 내로 투과되지 않으며, 특히 n=5의 측쇄 길이를 가진 화합물의 경우(이미지 (4))가 세포 내로의 투과성이 가장 크다는 것을 알 수 있었다.

<293> 시험 예 2: 핵막 투과성 측정

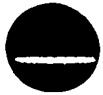
<294> 이어서, 다음과 같이 마우스 마크로파지 RAW264.7 세포에 본 발명의 화합물을 처리하여 이들의 핵막 투과 정도를 비교하였다. 12 웰 플레이트에 커버 글라스를 넣고 그 위에서 RAW264.7 세포를 배양하였다. 배지는 10% FBS가 포함된 DMEM으로 하고 24시간 동안 안정화시킨 후 세포의 기아를 위해 무혈청 배지에서 다시 24시간 배양하였다. 세포를 실온에서 RNase (100 µg/ml)로 처리한 다음 항온(23~25 °C)에서 5분간 요오드화 프로피듐 (2 µg/ml)으로 처리

하여 핵을 염색한 후 PBS로 3회 세척하였다. 이어서, 대상 수송체 화합물도 항온(23-25 °C)에서 3분 동안 처리한 다음 커버 글라스를 꺼내어 씻고 슬라이드에 마운팅시킨 후 공초점 현미경으로 모임면 단면을 관찰하였다. 이 때, 형광 물질을 여기시키기 위해 Ar 레이저(파장 455 nm)를 사용하고 배율은 대물 40x 대안 10x으로, 총 400배 확대 후 관찰하였다. 그 결과를 도 2에 나타내었다.

<295> 도 2의 (1) 내지 (5)는 각각 대상 수송체 화합물로서 (1)은 d-Arg₉, (2)는 구아니디늄기가 없는 중간체 화합물(실시예 1의 단계 1-6)에서 얻은 화합물), (3)~(5)는 구아니디늄기를 함유한 아미노산의 측쇄 길이가 각각 n=3, 5 및 7인 본 발명의 화학식 2의 화합물을 세포에 투과하였을 경우 나타나는 형광 이미지이다. 도 2의 (1) 내지 (5)에서 왼쪽 첫 번째 줄의 이미지들에서 녹색은 각각의 수송체 화합물이 세포 내로 투과된 것을 나타내고, 가운데 줄 이미지의 붉은 색은 요오드화 프로피дум으로 핵이 염색된 것을 나타내며, 세 번째 줄 이미지에서 붉은 색과 녹색이 겹쳐 노란색에 가까워질수록 화합물이 핵막 안으로 많이 투과된 것을 나타내는데, 이미지 (3) 및 (5)의 세 번째 이미지에서 나타내는 색이 노란색에 가장 가까우므로, 측쇄 길이 n=3 또는 n=7인 경우가 핵막 투과성이 보다 우수함을 알 수 있다.

<296> 도 2에 나타난 결과로부터, 본 발명의 화학식 2의 화합물의 핵막 투과성이 기존의 분자 수송체인 d-Arg₉보다 높고, 핵막의 경우에도 특정 측쇄 길이를 갖는 구아니디늄기가 도입된 이노시톨 화합물의 투과도가 높음을 알 수 있다.

<297> 또한, 형광물질이 부착된 *myo*-이노시톨 포스페이트[Prestwich, G. D., *Acc. Chem. Res.*, 29, 503 (1996); Chung S. K. et al. *J. Org. Chem.*, 67, 5256 (2002)]를 본 발명의 화학식 2



출력 일자: 2004/3/22

내지 4의 화합물과 혼합하여 제조된 이온결합체의 조성물도 생체막을 통과함을 관찰할 수 있었다.

【발명의 효과】

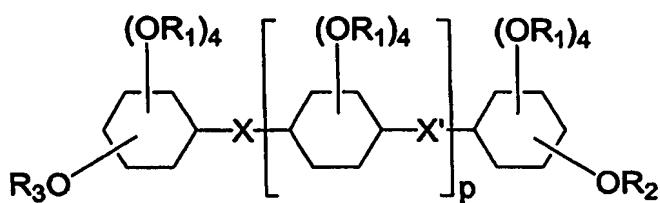
<298> 이상 살펴본 바와 같이, 이노시를 골격구조에 구아니디늄기를 도입하여 제조된 본 발명에 따른 이노시를 유도체는 세포막, 핵막, 혈액-뇌 장벽 등과 같은 생체막 투과성이 우수하여, 생체막 통과가 어려워 의약품으로 개발하기 어려웠던 치료용 또는 진단용 화합물 등을 세포, 조직, 장기 내로 수송할 수 있는 분자 수송체로서 유리하게 사용될 수 있다.

【특허청구범위】

【청구항 1】

하기 화학식 1로 표시되는 이노시톨 유도체:

화학식 1



상기 식에서,

$\text{R}_1 = \begin{array}{c} -\text{CO}-\text{(CH}_2\text{)}_n-\text{NH}-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2 \\ | \\ \text{NH} \end{array}$ 이고, 여기에서, n 은 1 내지 12 범위의 정수이며;

R_2 및 R_3 는 각각 독립적으로 H, 알킬, 아릴알킬, 시클로알킬, 헤테로알킬, $-(\text{CH}_2)_m\text{NHR}'$, $-(\text{CH}_2)_1\text{CO}_2\text{R}''$, $-\text{COR}'''$ 또는 $-\text{SO}_2\text{R}''''$ 이고, 여기에서, R' , R'' , R''' 및 R'''' 은 알킬이며, m 은 2 내지 5 범위의 정수이고, 1은 1 내지 5 범위의 정수이며;

p 는 0 내지 2 범위의 정수이며;

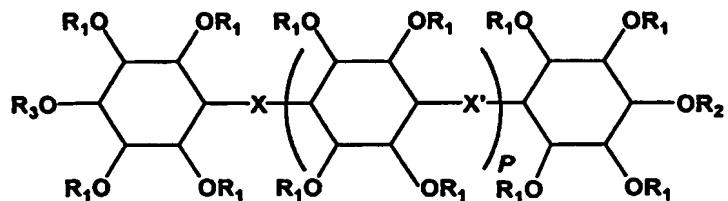
X 및 X' 는 각각 독립적으로 $-\text{O}-\text{CO}-\text{O}-$, $-\text{O}-\text{CO}-\text{NH}-\text{(CH}_2\text{)}_m-\text{O}-$, $-\text{O}-\text{CO}-\text{(CH}_2\text{)}_1-\text{O}-$ 또는 $-\text{O}-\text{(CH}_2\text{)}_1-\text{CO}-\text{NH}-\text{(CH}_2\text{)}_m-\text{O}-$ 이고, 여기에서, m 은 2 내지 5 범위의 정수이고, 1은 1 내지 5 범위의 정수이다.

【청구항 2】

제 1 항에 있어서,

하기 화학식 15로 표시되는 이노시톨 유도체:

화학식 15



상기 식에서,

R₁, R₂, R₃, X, X' 및 p는 제 1 항에서 정의한 바와 같다.

【청구항 3】

제 1 항에 있어서,

p는 0 또는 1인 것을 특징으로 하는 이노시톨 유도체.

【청구항 4】

제 1 항에 있어서,

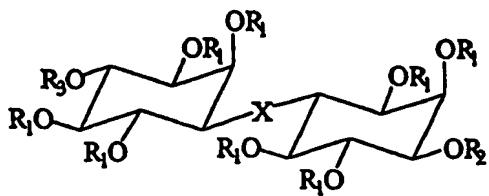
n이 3 내지 8 범위의 정수인 것을 특징으로 하는 이노시톨 유도체.

【청구항 5】

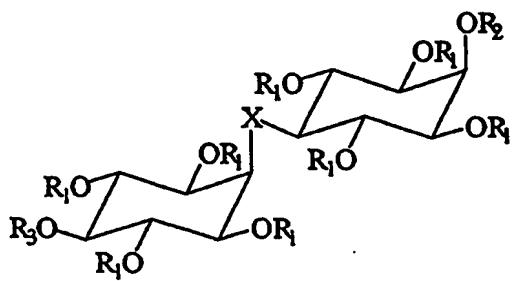
제 1 항에 있어서,

하기 화학식 2 내지 4 중 어느 하나로 표시되는 이노시톨 유도체:

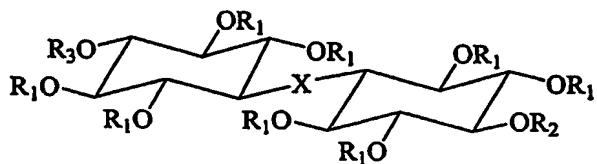
화학식 2



화학식 3



화학식 4



상기 식에서,

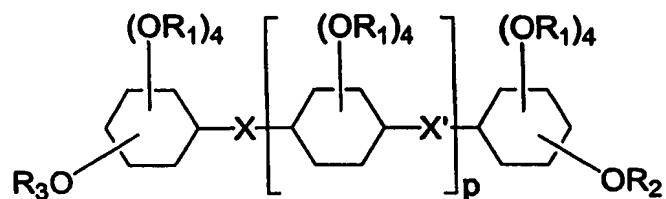
R_1 , R_2 , R_3 및 X 는 제 1 항에서 정의한 바와 같다.

【청구항 6】

- i) *myo-* 또는 *scylior-*이노시톨의 히드록시기에 보호기들을 도입하여 중간체를 얻는 단계;
- ii) 단계 i)에서 얻은 중간체들을 커플링하여 이노시톨 중합체 형태의 화합물을 얻는 단계;
- iii) 아실화 반응을 수행하여 단계 ii)에서 얻은 화합물에 아미노산을 도입하는 단계; 및

iv) 단계 iii)에서 얻은 화합물의 아미노산 N-말단에 구아니디늄기를 도입하는 단계를 포함하는, 하기 화학식 1로 표시되는 이노시를 유도체의 제조방법:

화학식 1



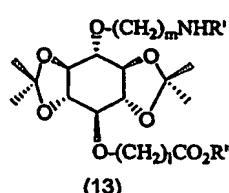
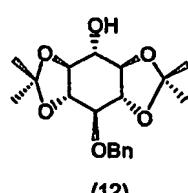
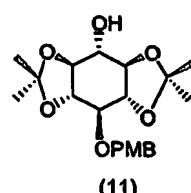
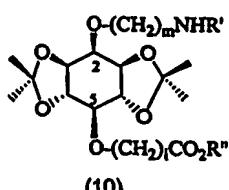
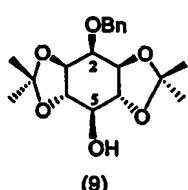
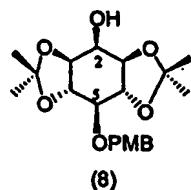
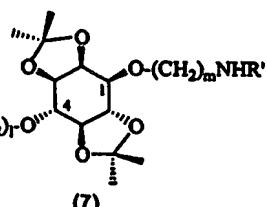
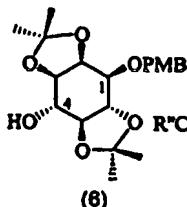
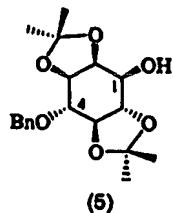
상기 식에서,

R_1 , R_2 , R_3 , X , X' 및 p 는 제 1 항에서 정의한 바와 같다.

【청구항 7】

제 6 항에 있어서,

단계 i)에서 중간체가 하기 화학식 5 내지 13의 화합물로부터 선택되는, 제 1 항에 따른 이노시를 유도체의 제조방법.

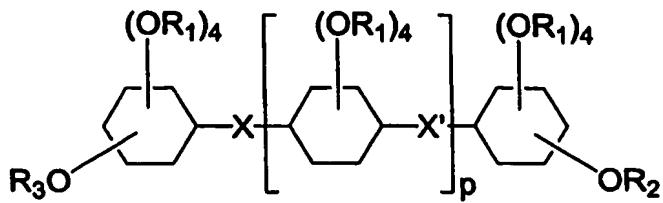


(상기 식에서, R', R'', 1 및 m은 제 1 항에서 정의한 바와 같고, Bn은 벤질기이고, PMB는 p-메톡시벤질임)

【청구항 8】

하기 화학식 1로 표시되는 이노시톨 유도체를 포함하는, 생체막을 투과하여 세포 내 또는 핵내로 의약품 또는 진단시약을 수송하기 위한 조성물:

화학식 1



R_1 , R_2 , R_3 , X , X' 및 p 는 제 1 항에서 정의한 바와 같다.

【청구항 9】

제 8 항에 있어서,

의약품 또는 진단시약이 분자량 100 내지 1500 g/mol인 유기화합물임을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 10】

제 8 항에 있어서,

의약품 또는 진단시약이 펩티드 및 핵산으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 고분자 화합물임을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 11】

제 8 항에 있어서,

화학식 1로 표시되는 이노시톨 유도체가 의약품 또는 진단시약과 공유결합을 통하여 공유결합체(conjugate)를 형성하는 것을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 12】

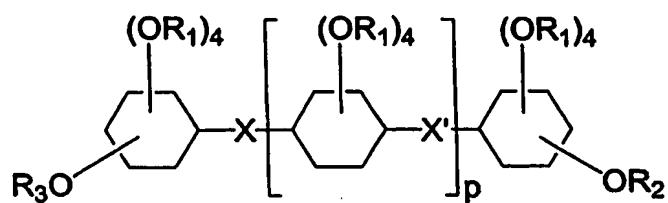
제 8 항에 있어서,

화학식 1로 표시되는 이노시톨 유도체가 의약품 또는 진단시약과 이온결합을 통하여 이온결합체(ion complex)를 형성하는 것을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 13】

하기 화학식 1로 표시되는 이노시톨 유도체를 분자 수송체로서 사용하여 의약품 또는 진단시약을 생체막에 투과시켜 세포 또는 핵 내로 전달하는 방법:

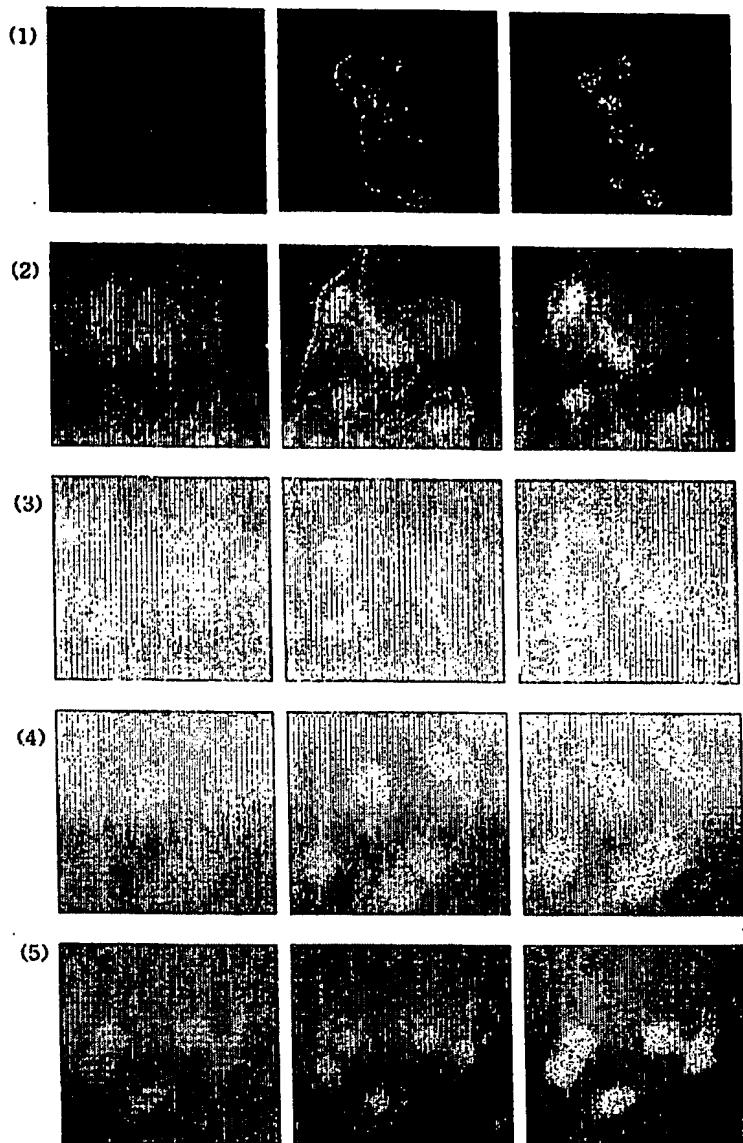
화학식 1



R_1 , R_2 , R_3 , X , X' 및 p 는 제 1 항에서 정의한 바와 같다.

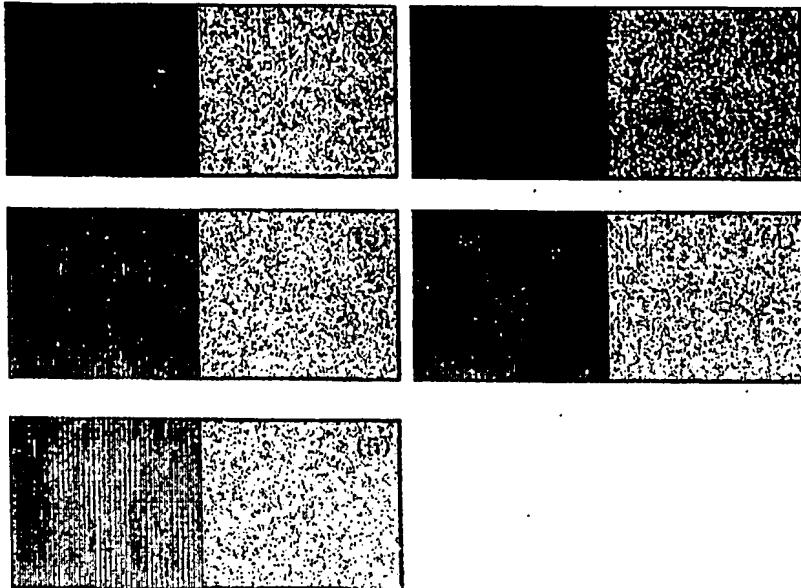
【도면】

【도 1】



 출력 일자: 2004/3/22

【도 2】



【서열목록】

서열목록 전자파일 첨부

<110> POSTECH FOUNDATION

<120> INOSITOL-BASED MOLECULAR TRANSPORTERS AND PROCESSES FOR THE
PREPARATION THEREOF

<130> FPD200401-0041

<160> 8

<170> KopatentIn 1.71

<210> 1
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial Sequence<220>
<223> a.a. 48 to 60 of HIV-1 Tat protein<400> 1
Gly Arg Lys Lys Arg Gln Arg Arg Arg Pro Pro Gln Cys
1 5 10<210> 2
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence<220>
<223> a.a. 43 to 58 of Antennapedia homeodomain<400> 2
Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys
1 5 10 15<210> 3
<211> 34
<212> PRT
<213> Artificial Sequence<220>
<223> a.a. 267 to 300 of VP 22<400> 3
Asp Ala Ala Thr Ala Thr Arg Gly Arg Ser Ala Ala Ser Arg Pro Thr
1 5 10 15Glu Arg Asp Arg Ala Pro Ala Arg Ser Ala Ser Arg Pro Arg Arg Pro
20 25 30

Val Glu

<210> 4
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence<220>
<223> SV40 nuclear localization signal<400> 4
Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Cys
1 5

<210> 5
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Nucleoplasmin nuclear localization signal

<400> 5
Lys Arg Pro Ala Ala Ile Lys Lys Ala Gly Gln Ala Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Cys

<210> 6
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> NF-kB

<400> 6
Pro Met Leu Lys Gln Arg Lys Arg Gln Ala
1 5 10

<210> 7
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> a.a. 34 to 50 of HIV-1 Rev

<400> 7
Arg Gln Ala Arg Arg Asn Arg Arg Arg Arg Trp Arg Glu Arg Gln Arg
1 5 10 15

Gly

<210> 8
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> a.a. 35 to 49 of FHV Coat

<400> 8
Arg Arg Arg Asn Arg Thr Arg Arg Asn Arg Arg Arg Val Arg Arg Gly
1 5 10 15

Cys

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.